

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Série U, N° 83

Année 1942-1943

Dosage de l'Ascaridol
dans l'Essence de Chenopodium
(Chenopodium ambrosioides L.)

THÈSE

pour l'obtention du Diplôme de

Docteur de l'Université de Paris
(Pharmacie)

présentée et soutenue le juillet 1943

Par

Henri LEPETIT

Pharmacien

Interne des Hôpitaux psychiatriques de la Seine

Lauréat de la Faculté

JURY { MM. M.-M.- JANOT, Président
M. MASCRÉ, Professeur
G. VALETTE, Maître de Conférences.

Imprimerie " PAX et LABOR "

41, rue de Paris, VANVES (Seine)

- 1943 -

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Série U, N° 83

Année 1942-1943

Dosage de l'Ascaridol
dans l'Essence de Chenopodium

(Chenopodium ambrosioides L.)

THÈSE

pour l'obtention du Diplôme de

Docteur de l'Université de Paris
(Pharmacie)

présentée et soutenue le juillet 1943

Par

Henri LEPETIT

Pharmacien

Interne des Hôpitaux psychiatriques de la Seine

Lauréat de la Faculté

JURY { MM. M.-M.- JANOT, Président
M. MASCRÉ, Professeur
G. VALETTE, Maître de Conférences.

PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE

Administration

MM. DAMIENS, Doyen, O. *, § I.
H. HERISSEY, Assesseur, O. *, § I.
H.-J. LIONNET, Secrétaire, § I.

Professeurs

MM. DAMIENS, O. *, § I.	Chimie minérale.
HERISSEY, O. *, § I.	Chimie biologique.
SOMMELET, *, § I.	Chimie organique.
FABRE, *, § I.	Toxicologie.
LAUNOY, O. *, § I.	Zoologie.
DELABY, *, § I.	Pharmacie chimique.
PICON, *, § I.	Physique.
MASCRÉ, *, § I.	Histoire naturelle des Médicaments simples d'origine végétale.
BACH, *, § I.	Botanique générale.
FLEURY, § I.	Chimie analytique.
RÉGNIER, § I.	Microbiologie.
JANOT, § A.	Pharmacie galénique.

Doyens honoraires : MM. RADAIS, O. *, § I, — GUÉRIN, O. *, § I,

Professeurs honoraires : MM. DELÉPINE, O. *, § I, et LEBEAU, O. *, § I,
Membres de l'Institut.
PERROT, C. *, § I, COUTIÈRE, O. *, § I,
BOUGAULT, O. *, § I. LUTZ, *, § I. et
GORIS, O. *, § I.

Maîtres de conférences

MM. BEDEL, *, § I.	Minéralogie, Législation et Déonto- logie pharmaceutiques.
CHARONNAT, § I.	Hydrologie et Hygiène.
VALETTE, § A.	Cryptogamie et technique microbio- logique. Pharmacodynamie.
FONTAINE	Histoire naturelle.
GUILLOT	Sciences physiques et chimiques.
PARIS	Sciences naturelles.

Chefs des travaux pratiques

MM. DOMANGE, § A., trav. pratiq. de 1 ^{re} année.	Chimie générale et pharmaceutique.
GAUTIER, § A., trav. pratiq. de 2 ^e et 3 ^e année.	Chimie analytique.
N.	Micrographie.
CORRIEZ, § A.	Physique.
DAVID, § A.	Microbiologie.
COURTOIS	Chimie biologique, Bromatologie et Pharmacie chimique.

Bibliothécaire en Chef : M. GARNIER, § A.

Bibliothécaire : M^{lle} LAVAUD, § A.



A MONSIEUR LE PROFESSEUR MAURICE-MARIE JANOT

Hommage de respectueuse gratitude.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR MARCEL MASCRÉ

Pharmacien des Hôpitaux de Paris,

A MONSIEUR LE PROFESSEUR GUILLAUME VALETTE

Maître de Conférences à la Faculté de Pharmacie de Paris,

Pharmacien des Hôpitaux de Paris,

*qui ont bien voulu accepter de faire partie de mon
jury de Thèse,*

Hommage de respect et de reconnaissance.

A MONSIEUR RENÉ FOTTIER

Assistant à la Faculté de Pharmacie de Paris,

Témoignage de sincère reconnaissance.

A MON PERE ET A MA MERE

A MON BEAU-PERE

A MA FEMME

A MES ENFANTS

Faible gage de mon affection,

A TOUS LES MIENS

Dosage de l'Ascaridol dans l'essence de *Chenopodium* (*Chenopodium ambrosioides*) L.

INTRODUCTION

L'essence de *Chenopodium* vermifuge, retirée des feuilles de *Chenopodium ambrosioides*, var. *anthelminthicum* Gray, est une nouveauté de la Pharmacopée française de 1937, mais la plante elle-même, ou du moins une variété, l'Ansérine vermifuge (*Chenopodium anthelminthicum* L.), figure aux éditions antérieures de 1818, 1866 et 1884, et ne fut abandonnée qu'à celle de 1908.

L'essence de Chenopode est actuellement inscrite à douze Pharmacopées étrangères, parmi lesquelles celles d'Allemagne, des Etats-Unis et de Grande Bretagne ; c'est donc certainement une drogue importante ; elle est d'ailleurs remarquable non seulement par sa composition tout à fait particulière et sa très grande activité, mais aussi par sa toxicité.

Elle est constituée, pour les trois quarts environ, par un peroxyde organique de la série terpénique, l'ascaridol, $C_{10}H_{16}O_2$ ainsi nommé à cause de son action contre les ascariides ; ce composé dont les propriétés sont bien spéciales, n'a été retrouvé jusqu'ici que dans une seule autre essence ; celle de Boldo où il existerait dans la proportion de 40 à 45 %.

La grande activité de l'essence ressort nettement de sa posologie : la dose journalière chez l'adulte est de l'ordre du demi-centimètre cube ; chez les jeunes enfants : une goutte par année d'âge.

Mais si la plupart des auteurs reconnaissent que l'essence de *Chenopodium* est incontestablement plus efficace que tous les autres vermifuges courants contre les ascaris et les ankylostomes, il est indispensable d'ajouter que sa toxicité a été

maintes fois signalée et qu'on a rapporté un nombre important de cas mortels. Un certain nombre de ces cas sont imputables, il est vrai, à des erreurs de posologie, d'autres à des idiosyncrasies. Il n'en reste pas moins que l'activité de l'essence de *Chenopodium* doit être contrôlée ; l'usage habituel de produits moins actifs pourrait, en effet, conduire à une posologie qui deviendrait dangereuse lors de l'absorption éventuelle d'une drogue de valeur normale. On trouve effectivement un procédé de dosage du principe vermifuge, l'ascaridol, pratiquement seul responsable de l'activité et de la toxicité, dans les Pharmacopées américaine, anglaise, belge, espagnole et française.

Le procédé inscrit au Codex 1937 est la reproduction presque exacte de celui adopté par la Pharmacopée britannique de 1932, mais aucune justification n'a été publiée en France du choix de ce procédé ni des modifications introduites au Codex français, par rapport au texte anglais.

Monsieur le Professeur M.-M. JANOT ayant extrait l'ascaridol de l'essence de *Chenopodium* pour en étudier certaines propriétés, fut amené à conclure que la méthode de dosage du Codex français ne donnait pas satisfaction, il nous indiqua comme sujet de thèse l'étude de la détermination de l'ascaridol dans l'essence, de façon à proposer lors de la révision de la Pharmacopée une technique sûre, suffisamment précise et de réalisation facile.

C'est ce problème que nous nous sommes attaché à résoudre en nous plaçant surtout au point de vue pratique et en cherchant à modifier aussi peu que possible le procédé actuel.

Nous avons examiné concurremment, avec le procédé du Codex, d'autres méthodes adoptées par des pharmacopées ou des formulaires officiels et qui nous semblaient pouvoir conduire à un résultat satisfaisant tant au point de vue de l'exactitude que de la rapidité d'exécution.

C'est l'ensemble de ces recherches dont on trouvera ci-après l'exposé. Cet exposé est précédé de renseignements utiles ou indispensables à la compréhension du sujet concernant l'essence de *Chenopodium* et son constituant fondamental : l'ascaridol.

Ces différents chapitres ont pour titres :

- I. — Essence de *Chenopodium* et ascaridol ;
- II. — Procédés de dosage de l'ascaridol ;
- III. — Recherches personnelles. — Généralités.
- IV. — Iodométrie ;
- V. — Titanométrie ;
- VI. — Essais de solubilité ;
- VII. — Colorimétrie ;
- VIII. — Comparaison des résultats ;
- Conclusions.

Je remercie Monsieur le Professeur M.-M. JANOT qui a bien voulu m'accepter dans son laboratoire et n'a cessé de me prodiguer, au cours de mes recherches, ses conseils et ses encouragements.

J'adresse mes remerciements à Monsieur le Professeur M. MASCRÉ et à Monsieur le Professeur G. VALETTE qui ont bien voulu faire partie de mon jury de thèse.

Je tiens également à exprimer ma reconnaissance à Monsieur RENÉ POTTIER, assistant du Laboratoire de Pharmacie galénique. Par ses directives de chaque jour, il m'a permis de mener à bien ces recherches. Je le prie de trouver ici l'expression de ma vive gratitude.

CHAPITRE I

Essence de *Chenopodium vermifuge* et *Ascaridol* (14)

ORIGINE ET OBTENTION

L'essence de *Chenopode vermifuge*, encore appelée essence de *Semen-contra d'Amérique*, est fournie par le *Chenopodium ambrosioides* L., var. *anthelminthicum* Gray, (Chénopodiacées).

La plante croît à l'état sauvage ou cultivé dans les zones moyenne et méridionale des États-Unis, mais la culture est pratiquement localisée dans une étroite bande de terrain, appelée « zone de l'essence », d'environ *quinze milles anglais de long sur quatre de large*, et dont le centre est Carrol Cotntry dans le Maryland. C'est cette région qui fournit le produit connu dans le commerce sous le nom d'essence de Baltimore.

La culture du *Chenopode vermifuge* a commencé également à se développer dans quelques autres contrées des États-Unis (Illinois, Dakota du Sud) et aux Indes Néerlandaises, principalement à Java ; elle s'effectue également dans le midi de la France ; des essais ont été tentés d'autre part en différents pays : Indes anglaises, Allemagne, Maroc. Enfin, on a signalé l'existence au Brésil de deux espèces voisines qui peuvent être des sources intéressantes d'ascaridol : *Chenopodium hircinum* Schrad. et *C. multifidum* L. (1). L'essence américaine serait toutefois la meilleure.

Les Indiens, à l'époque de Christophe COLOMB faisaient usage de la plante comme vermifuge ; le jus obtenu par expression était administré seul ou avec du lait ; plus tard on utilisera surtout les semences et l'essence.

La drogue fut introduite en Europe aux environs de 1880, mais son usage ne se répandit qu'une trentaine d'années plus tard surtout sous forme d'essence.

Elle a été remise en honneur récemment par les travaux de la Mission ROCKEFELLER qui entreprit avec ce produit la lutte contre l'ankylostomiase dans différentes régions tropicales.

L'essence de Chenopode est localisée dans des poils glandulaires qui se trouvent sur les fruits, l'ovaire, les feuilles et les jeunes tiges.

Pour la préparer, on distille à la vapeur la plante entière et principalement les graines. Le Codex indique seulement les feuilles à l'article Essence de Chénopode vermifuge, alors qu'à l'article relatif à la plante il précise que la partie employée est la plante entière fleurie, à l'exception des racines.

Ce sont, en effet, les graines qui sont les plus riches en essence, 0,6 à 1 % contre 0,35 % dans les feuilles. L'essence serait même totalement absente de ces dernières dans la plante arrivée à complète maturité.

La distillation présente quelques particularités intéressantes au point de vue pratique (47, 49, 50) en raison des propriétés de son constituant principal : l'ascaridol ; celui-ci par ébullition prolongée avec l'eau se décompose avec formation de composés inactifs qui sont plus légers et en même temps plus difficilement solubles dans l'alcool à 70° ; il faut réduire autant que possible la durée de distillation, donc opérer dans des alambics de dimensions relativement faibles et ne pas utiliser l'eau de distillation séparée de l'essence pour une opération ultérieure.

D'autre part, en raison de la densité de l'essence, très voisine de celle de l'eau (0.960 - 0.990 à 15°) la séparation est difficile lorsque la réfrigération est bonne. Au contraire, lorsqu'on laisse la température du condenseur s'élever, la différence des poids spécifiques s'accroît et la séparation est meilleure, surtout si l'on reçoit le distillat dans des récipients spacieux. L'essence séparée de l'eau constitue la qualité normale.

Depuis quelques années, on a pris l'habitude de récupérer l'essence contenue dans l'eau en redistillant celle-ci et contrai-

rement à ce qu'on pourrait prévoir d'après ce qui précède, on obtient ainsi un produit très riche en ascaridol, que les producteurs désignent sous le nom d'essence « high test ».

COMPOSITION

La composition de l'essence résulte principalement des travaux de SCHIMMEL (49), NELSON (31) (32), HENRY et PAGET (18) (19) (38). Le constituant le plus important est l'ascaridol $C_{10}H_{16}O_2$ dont la proportion va de 60 à 75 %. Le reste de l'essence est formé pour la plus grande partie de cymène (22 à 35 %) qui passe au cours de la distillation dans la partie la plus volatile. L'ensemble ascaridol-cymène formerait environ 85 à 95 % de l'essence. La quantité d'ascaridol s'accroît au fur et à mesure que la plante mûrit tandis que la proportion de cymène varie en sens inverse.

En dehors de ces deux composants majeurs, on peut signaler la présence des corps suivants : petites quantités d'un terpène qui donne la réaction du sylvestrène ; terpinène, isolimonène, l-limonène, traces de d-camphre dont la présence fut contestée, ascaridol-glycol, oxyde de diméthyléthylène, acide butyrique ; traces de salicylate de méthyle, et de safrol (?).

Le d-camphre rendrait compte dans une certaine mesure du faible pouvoir rotatoire gauche de l'essence. Le pouvoir rotatoire droit de cette cétone diminuerait le pouvoir rotatoire gauche des autres constituants actifs.

PROPRIETES

L'essence de *Chenopodium* est incolore ou jaunâtre.

L'odeur est forte, pénétrante, camphrée, désagréable.

La saveur est amère et brûlante.

Le poids spécifique des bonnes essences du commerce varie entre 0,963 et 0,990 ou davantage à 15°. Le pouvoir rotatoire oscille entre - 4 et - 9°. L'indice de réfraction à 20° est compris entre 1,474 et 1,484, le plus souvent entre 1,476 et 1,479.

L'essence de *Chenopodium* est soluble dans 3 à 10 volumes d'alcool à 70° (souvent avec un léger trouble).

Comme nous le verrons plus loin (chapitre VI), la solubilité dans l'acide acétique à 60 % est en relation avec la teneur en ascaridol.

REINDOLLAR et MUNCH (44) ont examiné, quant à leur degré de corrélation au sens de la théorie statistique, les résultats d'un certain nombre de déterminations effectuées, selon les méthodes de la Pharmacopée des États-Unis, 10^e édition (1926), sur des essences normales recueillies aux alambics ; ces déterminations comprenaient : teneur en ascaridol, poids spécifique d' $\frac{25}{25}$, pouvoir rotatoire spécifique à 25°, indice de réfraction à 20°, solubilité dans l'alcool à 70° (volume nécessaire pour dissoudre complètement un volume d'essence).

D'après ces auteurs, la teneur en ascaridol présente une relation directe significative avec le poids spécifique ($r = 0,89 \pm 0,02$) et une relation inverse avec la solubilité dans l'alcool ($r = - 0,73 \pm 0,05$).

Les autres résultats ne présentent pas de relations significatives. Chauffée en petite quantité dans un tube à essais jusqu'au commencement d'ébullition, l'essence de Chenopode prend une teinte plus ou moins jaune, en même temps qu'il se produit un dégagement de bulles gazeuses dues, comme nous le verrons, à la décomposition de l'ascaridol.

Cette coloration de l'essence par chauffage serait en relation avec la teneur de l'essence en ascaridol ; nous reviendrons plus loin sur ce sujet.

CONSERVATION.

On admet que l'essence de Chenopodium doit être conservée à l'abri de l'air, de la lumière et de la chaleur, sous peine de voir diminuer la teneur en ascaridol et, avec elle, l'activité du produit.

D'après GARRIGUES (3), l'essence conservée pendant longtemps peut devenir finalement brune et très épaisse

FALSIFICATIONS

On a signalé fréquemment des falsifications de l'essence de Chenopodium, surtout pendant la guerre de 1914-1918, lors-

que cessèrent les livraisons d'essence américaine ; on put même à cette époque caractériser des essences dites synthétiques, ne contenant pas trace d'ascaridol. Les composés les plus fréquemment utilisés pour la falsification étaient l'eucalyptol ou l'essence d'eucalyptus, l'anéthol, le menthol, l'acétate d'amyle, l'essence de citronnelle, des esters benzoïque et salicylique.

Ajoutons que l'on a proposé d'associer l'essence de *Chenopodium* à du tétrachlorure de carbone, composé qui pourrait alors faire figure d'adultérant, si l'on n'était averti de ce mode d'administration.

ACTION PHYSIOLOGIQUE ; TOXICITÉ.

L'essence de *Chenopodium* exerce une action paralysante sur la musculature des animaux à sang froid.

Une émulsion à 1 pour 5000 possède une action excitante sur le tonus du ver, paralysante ensuite. Les vers ainsi paralysés peuvent être éliminés au moyen d'un purgatif.

Une émulsion à 1 p. 1000 provoque, après une vive excitation initiale, une phase de dépression rapide avec diminution progressive des mouvements et la mort du ver s'ensuit.

SMILLIE et PESSOA (54) ont établi que l'ascaridol est le seul composant de l'essence qui possède une action anthelminthique. Comme nous l'avons déjà signalé, l'essence de *Chenopodium* et l'ascaridol présentent une toxicité marquée et ont provoqué un certain nombre d'accidents dont plusieurs furent mortels (53).

Les symptômes d'intoxication sont les suivants : étourdissements, vomissements, maux de tête, abattement général, surdité passagère ou chronique, albuminurie transitoire.

Les anciennes préparations (jus, extrait fluide) ou les semences ont été délaissées au profit de l'essence. En raison de la très grande activité, celle-ci a été très employée en médecine humaine ou vétérinaire, contre les ascarides, l'ankylostome et avec moins de succès contre les oxyures et l'amibe dysentérique.

Etant donnée la toxicité du produit, il est important, principalement chez les enfants, de suivre rigoureusement une posologie déterminée (14) (17).

Pour l'adulte, contre les ascarides, la dose moyenne est de 0, 2 cm³ d'essence prise sur du sucre, deux ou trois fois par jour, pendant deux jours ; on fait suivre la dernière absorption d'une cuillerée à soupe d'huile de ricin.

Contre l'ankylostome, on opère de la façon suivante : le malade fait d'abord un léger déjeuner suivi d'une purgation au sulfate de magnésium. Dans la matinée, il reçoit du lait puis trois doses se succédant à une heure d'intervalle, de chacune 0,5 cm³ d'essence sur une cuillerée à dessert de sucre granulé ; deux heures après la dernière dose, il absorbe du sulfate de magnésium.

Le traitement est répété de la sorte tous les 3 ou 5 jours, jusqu'à ce que les parasites aient disparu des selles, la grandeur des gouttes variant avec les sortes d'essence, *la dose doit être mesurée et non administrée par gouttes.*

Les enfants reçoivent une heure après un petit déjeuner, 1 goutte d'essence par année d'âge, mais pas plus de 10 gouttes et deux heures après un purgatif.

La dose maxima à la Pharmacopée allemande, 6^e édition 1936 est de 0,5 gr. en une fois, 1 gr. en 24 h.

L'essence de Chenopodium ne doit pas être employée chez les anémiques.

Il faut, d'autre part, autant que possible, éviter de la délivrer sous forme d'émulsion ; sous cette forme, en effet, si l'homogénéisation est insuffisante au moment de la mesure, il y a risque de surdosage.

On doit préférer l'usage des capsules qui contiennent généralement chacune 0, cm³ 25 d'essence. On peut prescrire 1 capsule par 3 années d'âge avec, comme maximum, 6 capsules en trois prises heure par heure, et une purgation saline une heure et demie après la première capsule.

ASCARIDOL

L'ascaridol, isolé de l'essence de *Chenopodium* en 1908 par HUTHIG, chimiste de la Maison SCHIMMEL & C^{ie}, (49), possède la formule $C_{10}H_{16}O_2$; c'est un peroxyde non saturé de la série terpénique et, à la suite des travaux de WALLACH (59), on s'accorde généralement aujourd'hui pour lui attribuer la constitution d'un Δ_2 p. menthène 1 — 4 dioxyde.

On l'obtient à partir de l'essence de *Chenopodium* par distillation fractionnée répétée dans le vide. C'est un liquide jaune clair, huileux, d'odeur désagréable qui rappelle à la fois le camphre et la carvone, et également, à l'état dilué, le scatol.

Il a été obtenu récemment à l'état cristallisé (38) par refroidissement aux environs de -20° de solutions effectuées dans différents solvants : alcool, éther de pétrole léger, éther isopropylique ou fraction terpénique de l'essence de *Chenopode*.

Ses principales constantes sont les suivantes :

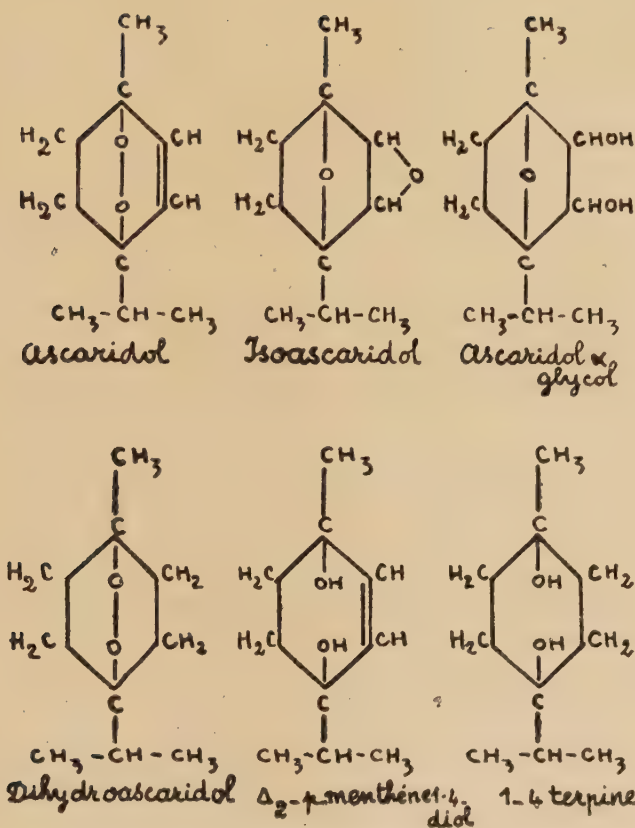
P.F: 2° , P.E: 113 — 114° (20 mm), d_{18}^{18} : 1,0113,
 $[\alpha]_D = -0,03$ (38) ; $n_D^{20} = 1,4736$ (37).

L'ascaridol est insoluble dans l'eau, soluble dans l'acide acétique à 60 % et dans la plupart des solvants organiques.

Chauffé prudemment à feu nu, en petite quantité dans un tube à essais, il se décompose avec explosion, au voisinage de son point d'ébullition ; dans les gaz dégagés, on a caractérisé récemment (22) l'oxyde de carbone ; le propane, le propylène, l'éthylène et des traces d'anhydride carbonique.

Dans le vide, le même phénomène ne se produit qu'à partir d'une température voisine de 320° ; les gaz présentent alors sensiblement la composition suivante :

Oxyde de carbone : 3 parties ; propane : 2 p. ; propylène : 1 p. ; éthylène : 1 p. L'ascaridol est également décomposé avec explosion par les acides sulfurique, chlorhydrique, nitrique, phosphorique, etc... Par chauffage à 150° , de préférence dans un solvant inerte, il fournit un isomère, l'isoascaridol ou anhydride d'ascaridol-glycol (P.E: 122-125 sous 20 mm) (18) qui s'hydrate sous l'influence de l'acide sulfurique dilué en ascaridol-glycol (voir schémas).



Ce sont ces réactions d'isomérisation et d'hydratation qui peuvent modifier la composition de l'essence au cours de la préparation, si la distillation est mal conduite ; elles semblent également se produire, comme nous le verrons plus loin, dans les réactions de réduction de la fonction peroxyde qu'on a tenté d'appliquer au dosage.

L'hydrogénation de l'ascaridol peut s'effectuer, soit avec rupture de la liaison peroxydique et formation du 1-4 glycol correspondant, soit avec saturation de la liaison éthylénique en 2-3 et formation d'un peroxyde saturé, soit enfin avec réalisation de ces deux réactions à la fois ; ces trois modes d'hydrogénation ont été obtenus expérimentalement, ce qui constitue la meilleure démonstration de la formule proposée par WALLACH.

La fixation d'hydrogène en présence d'oxyde de platine (38) respecte la fonction peroxyde et conduit au dihydroascaridol.

En présence de charbon palladié, on obtient en même temps que le produit précédent, du Δ_2 p. menthène -1-4-diol (38) (46), par ouverture de la liaison peroxyde

Enfin, en présence de palladium colloïdal (59) ou mieux d'oxyde de platine en solution alcoolique (3), il se fixe deux molécules d'hydrogène avec formation de cis-1-4 terpène. De même en suspension aqueuse en présence de Nickel-Raney, à froid on isole facilement la cis-1-4 terpène fusible à 117-118° (22).

Bien que l'ascaridol absorbe la quantité calculée d'hydrogène pour sa transformation en 1-4- terpène, il ne réagit stoechiométriquement avec aucun des réducteurs jusqu'ici employés pour sa détermination et dont les principaux sont le chlorure de titane (37) et l'iodure de potassium en milieu acide (6); ces méthodes de dosage qui utilisent ces réactifs exigent l'emploi d'un facteur empirique. Par rapport à une réduction idéale correspondant à la fixation de quatre atomes d'hydrogène, le chlorure de titane est utilisé dans la proportion de 34,7 %, l'iodure en milieu acide à raison de 63,3 % (38).

La réduction par le chlorure de titane conduit à un mélange complexe : il se fait, dans une proportion de 33 %, une réaction dans laquelle la destruction de la fonction peroxydique s'accompagne d'un dégagement de propane et d'une formation de p-crésol ; parmi les autres transformations, il faut citer l'isomérisation et la condensation de l'ascaridol.

Il est intéressant de noter que le dihydroascaridol, traité de la même façon, fournit, avec rendement de 90 %, du propane et du 1-méthyl-cyclohexane 1-ol 3-4 oxyde. Ajoutons que le dégagement de propane qui, comme nous l'avons vu, s'effectue lors de la décomposition par la chaleur, a également été constaté dans la réduction par le sulfate ferreux (NELSON 1911).

Notons enfin que le Δ_2 p-menthène 1-4, diol, produit de réduction partielle de l'ascaridol avec destruction de la fonction peroxyde, ne réagit pas avec le trichlorure de titane.

CHAPITRE II

Procédés de dosage de l'Ascaridol

L'ascaridol étant à la fois le composé de beaucoup le plus abondant de l'essence de *Chenopodium* et le seul actif au point de vue thérapeutique, il est hors de doute que le meilleur essai de l'essence consiste en son dosage ; l'ascaridol étant d'autre part le seul constituant possédant une fonction peroxyde, un dosage fondé sur les propriétés de cette fonction sera spécifique du principe actif de l'essence ; mieux encore, l'ascaridol étant le seul peroxyde existant à pareille concentration (70 %) dans une essence, il n'y aura pratiquement pas de possibilité de fraude par un autre produit naturel (l'essence de Boldo, seule autre essence contenant de l'ascaridol, est beaucoup moins riche en ce constituant) ; enfin les peroxydes organiques synthétiques sont assez peu accessibles ou diffèrent suffisamment de l'ascaridol par leurs propriétés pour que leur emploi pour falsifier l'essence de *Chenopodium* soit peu tentant ou facilement décelé.

Bref, le meilleur essai de l'essence de *Chenopodium* revient donc à un dosage de la fonction peroxyde ; malheureusement, comme nous l'avons déjà signalé, l'ascaridol ne réagit pas quantitativement en tant que peroxyde sur les réducteurs généralement employés dans ces sortes de dosages, ce qui a amené les chercheurs à tenter d'utiliser des procédés moins spécifiques, mais plus simples : procédés colorimétriques ou même mesures physiques.

Nous passerons brièvement en revue les trois groupes de méthodes proposées jusqu'ici : méthodes de dosage de la fonction peroxyde, méthodes colorimétriques, méthodes physiques et nous ajouterons quelques mots sur les méthodes biologiques.

Méthodes de dosage de la fonction peroxyde

IODOMETRIE.

La méthode de beaucoup la plus employée est le titrage au moyen de l'hyposulfite de sodium de l'iode libéré de l'iodure de potassium par le peroxyde en solution acide.



Elle a été appliquée au dosage de l'ascaridol par COCKING et HYMAS (6) et sera examinée en détail dans le Chapitre IV ; rappelons seulement qu'elle nécessite l'emploi d'un coefficient empirique.

TITANOMETRIE.

La Titanométrie semble avoir été employée davantage pour doser les quinones que les peroxydes (27 bis). Le trichlorure de titane ajouté en excès au peroxyde est partiellement oxydé en tétrachlorure ; le trichlorure non transformé est dosé par un sel ferrique en présence de sulfocyanure comme indicateur.



La méthode est délicate par suite de la nécessité d'éviter l'oxydation du chlorure titaneux par l'oxygène de l'air. Elle a été utilisée pour le dosage de l'ascaridol par PAGET (37) ; elle fera l'objet du Chapitre V ; comme l'Iodométrie, elle exige l'emploi d'un coefficient empirique.

CHLORURE STANNEUX — SULFOCYANATE FERREUX.

Un des plus anciens procédés de dosage des peroxydes est celui de PECHMANN et VANINO (38 bis). La solution de peroxyde est chauffée quelques minutes avec un excès connu de solution acide de chlorure stanneux ; après refroidissement, le chlorure stanneux non oxydé est titré par l'iode, ce procédé a été essayé par COCKING et HYMAS qui ne lui ont pas trouvé d'avantage sur la méthode au chlorure de titane ; le chlorure stanneux s'oxydant lui aussi, finalement à l'air ; il en a été de même du sulfocyanate ferreux employé comme réducteur.

HYDROGENATION.

Etant donné que l'hydrogénation de l'ascaridol en 1. 4 terpène s'effectue régulièrement (22) on pourrait songer

à utiliser cette réaction pour le dosage de l'ascaridol, mais, outre que le procédé nécessite un appareillage encore peu répandu, la spécificité du dosage serait faible.

Méthodes colorimétriques

D'après LANGER (26), l'essence de *Chenopodium* chauffée avec un peu de phénolphthaléine, prend une coloration pourpré que KNAFFL-LENZ et HOFMANN (24) cherchèrent à utiliser pour le dosage.

Ces derniers auteurs proposèrent eux-mêmes d'employer pour l'évaluation de l'ascaridol par voie colorimétrique, la coloration brune qu'il fournit sous l'influence de l'acide chlorhydrique dans des conditions bien déterminées. La coloration jaune foncé que prend l'essence sous l'action de la chaleur a également été utilisée pour l'évaluation de l'ascaridol ou plutôt pour la vérification de sa présence à la concentration minimum de 60 % dans l'essence. Nous reviendrons au Chapitre VII sur ces trois procédés.

Méthodes physiques

L'essence de *Chenopodium* possède, comme nous l'avons rapporté, une composition relativement simple et ses deux constituants principaux : ascaridol et cymène, ont des propriétés physiques nettement différentes, aussi, le dosage de l'ascaridol par voie physique a-t-il été tenté à plusieurs reprises.

Le fractionnement de l'essence par distillation sous pression réduite (49) (57) (37) (24) (2) (35) s'effectue assez facilement et donne des résultats qui concordent avec ceux que fournissent les méthodes chimiques, mais sa réalisation exige pour être précise, une quantité assez grande d'essence, et les résultats obtenus ne sont spécifiques que si l'opération est conduite dans des conditions bien déterminées permettant l'établissement d'une véritable courbe de distillation.

Les autres méthodes physiques, basées sur la détermination de la densité de l'essence, (24) (44) (45), de son indice de réfraction (24) (44) ou même de ses solubilités (35) (37) (36) (45), manquent par nature, de spécificité et ne fournissent que des résultats approximatifs et peu sûrs. Nous examinerons

au Chapitre VI les résultats que donne l'essai de solubilité de l'essence adopté par la Pharmacopée des Etats-Unis.

D'ailleurs, comme nous l'avons déjà signalé, d'après REINDOLLAR et MUNCH (44), la teneur en ascaridol de l'essence ne présente de relation directe significative qu'avec le poids spécifique ($r = 0,89 \pm 0,02$) et, d'autre part, une relation inverse avec la solubilité dans l'alcool ($r = - 0,73 \pm 0,05$).

Méthodes biologiques

Lorsque, comme c'est le cas ici, le constituant actif est identifié et peut être déterminé avec assez de précision par voie chimique ou physique, la méthode biologique n'offre pas d'intérêt pour l'essai de l'essence ; elle a cependant été étudiée par KNAFFL-LENZ et HOFMANN (24) qui utilisèrent les vers de terre et des poissons, et par REINDOLLAR et MUNCH (44).

Les résultats furent ce qu'on pouvait prévoir : peu cohérents et inutilisables pour le contrôle de l'essence.

CHAPITRE III

Recherches personnelles - Généralités

Avant d'aborder l'exposé des questions que nous avons soumises à une étude expérimentale, nous croyons utile de donner un aperçu de la marche suivie :

ECHANTILLONS D'ESSENCE.

Nous avons pu rassembler sept échantillons commerciaux différents d'essence de *Chenopodium*, dont malheureusement deux seulement se trouvaient en quantités importantes, suffisantes pour un fractionnement soigné par distillation ; ces échantillons seront désignés respectivement par les lettres A, B, D, E, F, G, H ; ils nous ont été garantis purs par d'honnêtes maisons de droguerie françaises ou étrangères.

ETUDE DES METHODES DE DOSAGE.

Chaque méthode de dosage a été tout d'abord soumise à un contrôle permettant d'apprécier sa fidélité et son exactitude : elle a été appliquée à des solutions titrées d'ascaridol pur dans le cymène pur, dont les concentrations en principe actif variaient de 10 à 100 %, ou tout au moins de 50 à 100 %. Cette étude a permis d'établir pour chaque méthode, la relation quantitative entre la concentration en ascaridol et les résultats du dosage.

Lorsque les recherches bibliographiques faisaient prévoir l'influence particulière d'un facteur déterminé (acidité, température, etc...), nous avons fait varier ce facteur, *indépendamment des autres*, de façon à en déceler l'importance. Une confrontation des résultats obtenus a permis de choisir une technique déterminée, aussi avantageuse que possible au point de vue de la fidélité et de l'exactitude. Cette technique a été ensuite appliquée à chacun de nos échantillons d'essence.

Finalement, les résultats ont été groupés, comparés et interprétés.

Toute la partie volumétrique de notre travail a été effectuée au moyen de matériel (balances, pipettes, burettes, etc...)

et dans des conditions (choix des prises d'essai, etc...) n'ajoutant pas aux erreurs de la méthode elle-même, une incertitude supérieure à 0,50 %.

En règle générale, chaque dosage a été effectué en triple exemplaire ; chaque résultat est la moyenne arithmétique des trois valeurs ainsi obtenues.

Pour caractériser la fidélité d'une technique, nous avons utilisé une quantité que nous appellerons écart maximum relatif (sous-entendu : avec la moyenne). Si M est la moyenne arithmétique des résultats obtenus, D, la valeur qui s'en écarte le plus, l'écart minimum relatif pour cent est égal au module de $100 \left(\frac{M - D}{M} \right)$ dont on s'est contenté de donner une valeur approchée par excès.

ISOLEMENT DE L'ASCARIDOL PUR.

L'ascaridol pur a été obtenu par distillations fractionnées répétées sous pression réduite à partir des essences A et H, les seules que nous possédions en quantités suffisantes pour qu'une telle opération puisse être conduite de façon quantitative avec une précision satisfaisante.

Voici quelques précisions sur le comportement de l'essence H : un premier fractionnement fut effectué sur des portions de 200 g. d'essence, sous une pression voisine de 0,75 mm. La marche de la distillation conduit à constituer trois fractions : la première passe à la distillation avant 60°, la deuxième entre 60 et 85° et pour la plus grande partie aux environs de 75° ; le résidu est constitué par ce qui ne distille pas à 85°.

Les pourcentages moyens des trois fractions ont été, respectivement, au cours de quatre opérations : $25 \pm 1,5$, $73 \pm 1,5$, $4 \pm 0,5$.

La deuxième fraction soumise à une opération analogue fournit environ 90 % d'un produit qui distille aux environs de 70° sous 0,50 mm. et qui, soumis à nouveau à deux fractionnements, a donné finalement le corps que nous avons considéré comme de l'ascaridol pur bouillant à 74° sous 0,66 mm. ; $D_{18} = 1,0110$.

Le produit obtenu à partir de l'essence A par une voie analogue possédait sensiblement les mêmes constantes ; Eb : (0,8) : 76-77°2; $d = 1,0140$.

Dans les deux cas, le pouvoir rotatoire était sensiblement nul ; (± 2 minutes dans une tube de 1 dm).

A partir de l'ascaridol ainsi obtenu, on a préparé des solutions dans le cymène pur (1) à des titres sensiblement égaux respectivement à 10, 20, 30 etc. 90 %.

REMARQUES SUR LE FRACTIONNEMENT.

Comme nous l'avons déjà signalé, la séparation de l'ascaridol par fractionnement à partir de l'essence de *Chenopodium*, a été proposée comme méthode de dosage ; effectivement le rendement obtenu à partir de l'essence H en produit tenant environ 90 % d'ascaridol pur, permet de conclure à une teneur en ce produit, voisine de celle obtenue par d'autres méthodes, bien que plus faible.

Mais on ne peut espérer obtenir par fractionnement simple un rendement quantitatif en principe actif et nous avons vérifié au moyen d'une des techniques décrites plus loin (Iodométrie), que toutes les fractions obtenues contiennent de l'ascaridol ; la coïncidence entre le rendement du fractionnement en produit de cœur et le pourcentage en ascaridol dans l'essence, ne peut résulter que d'un choix arbitraire des circonstances du fractionnement, difficiles d'ailleurs à reproduire au cours d'essais successifs.

La méthode est, d'autre part, peu spécifique, elle présente toutefois l'intérêt de fixer l'ordre de grandeur de la teneur en principe actif, lorsqu'on a soin de vérifier ultérieurement, comme nous l'avons fait, que la fraction de cœur est effectivement un produit très riche en ascaridol.

(1) Le cymène nous a été fourni par M. le Chanoine PALFRAY, que nous tenons à remercier de son amabilité ; une seule rectification nous a permis de l'obtenir pur, bouillant à 59° sous 12 mm.

CHAPITRE IV

Iodométrie

METHODE DE COCKING ¹ et HYMAS

(et METHODES ANALOGUES)

Il peut paraître étrange qu'il ait fallu attendre jusqu'en 1930 l'application au dosage de l'ascaridol dans l'essence de Chenopodium de la méthode iodométrique, si fréquemment utilisée pour la détermination de dérivés peroxydiques variés, tant minéraux qu'organiques, mais dans la pratique, l'essence et l'ascaridol lui-même ne se comportent pas de façon simple au cours de leur action sur l'iodure de potassium en milieu acide et c'est ce qui a pu dissuader les chercheurs d'utiliser cette réaction pour élaborer une méthode de dosage.

DONNEES EXPERIMENTALES — PRINCIPE DU DOSAGE

Lorsqu'on fait agir l'essence de Chenopodium ou l'ascaridol dissous dans un solvant convenable (alcool ou acide acétique, par exemple) sur l'acide iodhydrique (iodure en milieu acide), il y a libération plus ou moins rapide d'iode qui peut être titré par l'hyposulfite de sodium. Si la réaction s'effectuait suivant le schéma général :



1 g. d'ascaridol libérerait 118 cm³ d'iode 0,1 N, ou inversement, 1 cm³ de solution d'iode 0,1 N libéré (ou d'hyposulfite 0,1 N employé pour le titrage), correspondrait à 0,00841 g. d'ascaridol.

Le plus souvent, les résultats obtenus expérimentalement diffèrent de ces valeurs théoriques et varient notablement avec les conditions de l'essai. Toutefois, les déterminations effectuées dans des conditions données sont reproductibles avec une précision satisfaisante, ce qui a permis à Cocking et Hyman (6) d'établir une technique de dosage qui a été employée par quelques auteurs avec des fortunes diverses ; elle a cependant été adoptée à la Pharmacopée Britannique de 1932 (55) et au Codex Français de 1937 (40), ce qui nous impose de l'étudier avec quelques détails, tant dans son principe que dans sa réalisation pratique.

Pour fixer les idées, nous reproduirons d'abord intégralement la technique du Codex :

« *DOSAGE DE L'ASCARIDOL.* — Dissolvez une prise d'essai voisine de 2, g.,5, pesée exactement, dans une quantité d'acide acétique suffisante pour avoir un volume total de 50 cm³. D'autre part, mélangez 3 cm³ d'une solution contenant 83 g. d'iodure de potassium pour cent avec 5 cm³ d'acide chlorhydrique concentré et 10 cm³ d'acide acétique officinal. Placez ce liquide dans un mélange réfrigérant (température 0° à 3°) quand le liquide est bien refroidi, ajoutez aussi rapidement que possible et en agitant 5 cm³ de la solution acétique d'essence de Chenopodium contenue dans une burette; bouchez soigneusement et laissez dans le mélange réfrigérant pendant 5 minutes. »

« Ajoutez au mélange 5 cm³ de tétrachlorure de carbone; titrez l'iode libéré avec la solution décimale d'hyposulfite de sodium. Faites d'autre part un témoin, dans les mêmes conditions, mais en mélangeant 3 cm³ de la solution d'iodure de potassium, 5 cm³ d'acide chlorhydrique officinal, 15 cm³ d'acide acétique, 20 cm³ d'eau distillée; refroidissez ce mélange en même temps que l'essai. Ajoutez 5 cm³ de tétrachlorure de carbone; et versez de l'hyposulfite de sodium jusqu'à décoloration. Soit N le chiffre obtenu dans l'essai et n le chiffre obtenu dans le témoin :

$$(N-n) \times 0,0084 = \text{ascaridol dans la prise d'essai.}$$

Calculez le pourcentage.

Le produit officinal doit contenir au minimum 60 pour cent d'ascaridol. »

Il faut remarquer que, selon le Codex, 1 cm³ d'hyposulfite 0,1 N correspond bien à 0,0084 d'ascaridol, c'est à dire que la réaction s'effectuerait selon le schéma théorique.

La technique de la Pharmacopée Britannique est l'exacte reproduction de celle de COCKING et HYNES, elle diffère de la précédente par quelques points :

1° — L'acide acétique employé pour la dissolution de l'essence est à 90 % (au lieu de 100 %);

2° — Le mélange de la solution d'iodure de potassium, acide chlorhydrique, acide acétique, est immergé dans un bain réfrigérant *jusqu'à ce que la température soit descendue à -3°* ;

3° — Il est précisé de faire attention à l'écoulement correct de la burette au cours de la mesure des 5 cm³ de solution acétique d'essence ;

4° — Après addition de cette solution, le mélange est placé pendant 5 minutes dans un endroit froid (sans qu'il soit spécifié d'utiliser à nouveau le mélange réfrigérant). COCKING précise toutefois que la température ne doit pas dépasser 10° ;

5° — Le tétrachlorure de carbone n'est pas utilisé dans le titrage ;

6° — 1 cm³ d'hyposulfite 0,1 N est déclaré correspondre à 0,00665 g. d'ascaridol (au lieu de 0,0084 g. au Codex français).

Remarquons dès maintenant que, suivant cette nouvelle relation d'équivalence, 1 g. d'ascaridol libère 150,4 cm³ d'iode 0,1 N, c'est-à-dire une quantité supérieure de 26,5 % à la théorie ;

7° — La teneur minimum en ascaridol est fixée à 65 % (poids pour poids) au lieu de 60 %.

Des procédés analogues ont été employés depuis longtemps par certains auteurs pour doser les peroxydes organiques, en particulier, ceux qui se forment au cours de l'autoxydation des éthers ou des corps gras. L'une des dernières techniques proposées, celle de LIEBHAFSKY et SHARKEY (27) a été créée pour l'évaluation des peroxydes formés dans l'autoxydation d'éthers et plus spécialement d'éther butylique normal ; elle fut reprise, sans modification, par Mme PORCHER PIMPARD (42) pour le dosage de « l'oxygène actif » dans les huiles essentielles « oxygénées ».

Facteurs de la réaction

Tous les auteurs qui ont étudié la réaction servant de base au dosage ont constaté qu'un certain nombre de facteurs exerçaient une influence sur la quantité d'iode libérée, mesurée par l'hyposulfite utilisé, déduction faite de la valeur trouvée pour le témoin.

Avant d'aborder l'exposé de nos propres recherches, nous passerons en revue les observations faites à ce sujet par les différents chercheurs, pour chacun des facteurs de la réaction.

Influence du temps.

En effectuant le titrage sans refroidir et en l'absence d'acide chlorhydrique, COCKING et HYMAS (6) ont remarqué que la quantité d'iode augmentait d'abord avec le temps; par contre, en présence de beaucoup d'acide chlorhydrique, et en refroidissant, comme c'est le cas pour la technique qu'ils ont définitivement adoptée, la prolongation du temps de contact avant titrage conduisait toujours à des valeurs moins élevées.

Dans ce cas, le dosage terminé, on constate la présence d'une écume huileuse de couleur d'autant plus foncée que les résultats sont plus faibles; le liquide est trouble et possède une couleur jaune qui ne disparaît pas sous l'influence d'un excès d'hyposulfite, aussi le point de virage risque-t-il d'être dépassé.

BODENDORF (2), en travaillant d'ailleurs selon une technique nettement différente de celle de COCKING et HYMAS, a mis en évidence l'existence d'un maximum dans la quantité d'iode libérée en fonction du temps.

« 1.1469 g. d'ascaridol furent dissous dans environ 50 cm³ d'acide acétique, additionnés de 10 cm³ de solution d'iodure de potassium à 40 % et de 20 cm³ d'acide sulfurique à 20 %; on complète à 100 cm³ avec de l'acide acétique. » Au bout de temps variés, on titre à l'hyposulfite 10 cm³ du mélange correspondant théoriquement à 13,6 cm³ de solution 0,1 N.

Temps (en minutes) :	0	10	45	70	105	215
S ₂ O ₃ Na ₂ 0,1 N (en cm ³) :	0	3,9	6,0	5,3	4,8	3,9

Pour expliquer ce phénomène, l'auteur admet la formation, à partir de l'ascaridol, d'un produit secondaire qui consomme de l'iode.

Au fur et à mesure que la réaction se poursuit, les concentrations en produit secondaire et en iode s'élèvent et la vitesse de leur union s'accroît au détriment de celle de la réaction primaire.

BROUGHTON (5) n'a pas trouvé d'amélioration en faisant varier le temps de contact (il n'indique pas l'ordre de grandeur des variations introduites).

En résumé, il semble bien qu'il existe, d'une façon générale, un maximum de l'iode libéré en fonction du temps, mais en ce qui concerne la technique de COCKING et HYMAS, ou celle du Codex, on ne possède pas de précisions sur l'ordre de grandeur des variations que peut provoquer un changement déterminé du laps de temps écoulé avant le dosage.

Influence de la concentration en iode.

COCKING et HYMAS, au cours d'essais préliminaires, ont trouvé qu'en milieu acétique, en chauffant et titrant alternativement le mélange réactionnel et poursuivant ainsi le dosage jusqu'à décoloration stable, l'augmentation de la quantité d'iodure ne change pas sensiblement les résultats ; par contre, en présence d'acide chlorhydrique, cette augmentation provoque une forte élévation de la quantité d'iode libérée.

Mais, dans ce dernier cas, le liquide possède, à la fin du titrage, une couleur jaune qui résiste à l'addition d'hyposulfite ; il reste au contraire incolore en solution purement acétique.

Influence de la concentration en acide chlorhydrique.

Selon COCKING et HYMAS (6), l'addition d'acide chlorhydrique permet d'obtenir un résultat supérieur à celui que fournit l'acide acétique seul et, jusqu'à une certaine limite, d'autant plus élevé que la concentration en acide est plus grande.

Pour que, d'autre part, les résultats soient concordants, il faut que la quantité d'acide chlorhydrique utilisée dépasse nettement la valeur qui est équivalente à celle de l'iodure de potassium (3 cm³ de solution 5 N) ; on peut éventuellement obtenir des résultats cohérents avec 3 ou 4 cm³ d'acide, mais dans l'ensemble, il faut atteindre la dose de 5 cm³ pour que le dosage soit suffisamment fidèle.

BROUGHTON (5) n'a pas trouvé d'amélioration en faisant varier les quantités d'acide utilisées sur lesquelles, d'ailleurs, il ne donne pas d'autres précisions.

Influence de la température.

COCKING et HYMAS (6) signalent qu'en l'absence d'acide chlorhydrique, et par rapport à un essai effectué entièrement à la température ordinaire, un autre essai donne des résultats plus élevés si on chauffe et titre alternativement jusqu'à obtention d'une décoloration permanente (durée environ 20 minutes).

Ces auteurs ayant constaté qu'en employant l'acide chlorhydrique concentré en quantité importante, le mélange devenait nettement chaud par addition de la solution acétique d'essence, ils pensèrent à refroidir énergiquement la solution chlorhydrique d'iodure de potassium, additionnée ou non de tétrachlorure de carbone, avant d'ajouter la solution acétique d'essence ; le rendement en iode augmente énormément dans ces conditions et davantage en l'absence de tétrachlorure, d'où l'adoption de la technique définitive : abandon du tétrachlorure, refroidissement initial au-dessous de 0°, repos de 5 minutes en lieu froid après addition de la solution acétique d'essence (on peut laisser 10 minutes si la température ne dépasse pas 10°).

BROUGHTON (5) n'a pas remarqué d'influence sensible sur la réaction de variations de température, dont il n'indique d'ailleurs pas l'ampleur.

Influence de l'addition d'un solvant organique.

COCKING et HYMAS (6), dans des expériences effectuées par refroidissement préalable, constatèrent que le tétrachlorure de carbone ajouté avant la solution à doser au mélange iodure, acide chlorhydrique, fournit un résultat légèrement supérieur ; si l'on refroidit, le résultat est légèrement inférieur. Le benzène, au contraire, diminue la quantité d'iode libérée, d'autant moins d'ailleurs, que le mélange est effectué plus rapidement.

Influence de la concentration en ascaridol.

COCKING et HYMAS (6) ne signalent pas l'influence de la concentration en ascaridol sur les résultats ; ils ne l'ont pas recherchée systématiquement et ils ont obtenu des valeurs cor-

rectes en diluant une essence au moyen de cinéol, de p. cy-mène, ou d'essence de térébenthine, de façon à ce qu'elle contienne 58,9 % d'ascaridol.

BROUGHTON (5) signale que la quantité d'ascaridol calculée d'après les résultats du dosage augmente avec la dilution, mais il ne remarque pas la régularité du phénomène ; nous reproduisons ci-dessous ces résultats, qui présentent un certain intérêt, comme nous le verrons plus loin.

Sur un échantillon d'ascaridol pur à 100 % (contrôle par la méthode de PAGET), il applique la méthode iodométrique, en mettant en jeu successivement la quantité prescrite (5 cm) de solution acétique, puis des volumes respectivement égaux à 3 cm , 2 cm 3, 1 cm3 de cette solution. Les pourcentages correspondants d'ascaridol ainsi trouvés sont de : 89,43 (ascaridol pur) — 93,73 — 96,80 — 101,43.

Étalonnage et contrôle

de la méthode iodométrique — Précision

COCKING et HYMAS (6) ont étalonné leur méthode au moyen d'ascaridol fourni par les Wellcome Chemical Research Laboratories et titrant 96 % d'ascaridol pur, d'après la titanométrie ; ils ont trouvé que 1 cm³ d'hyposulfite 0,1 N correspondait à une quantité d'ascaridol variant au cours de 6 dosages, de 0,00660 à 0,00670, soit en moyenne 0,00665 g.

Pour contrôler leur technique, ils ont fourni un échantillon d'essence analysé par eux à quatre chimistes différents ; sur les vingt-huit résultats ainsi obtenus l'écart relatif maximum fut d'environ 2,7 % (les auteurs indiquent 2 %).

Ils ont, d'autre part, effectué des dosages comparatifs par leur méthode et celle de PAGET sur divers produits :

- I. — 'Une essence de térébenthine de bonne qualité ;
- II. — 'Une essence commerciale falsifiée, contenant du cinéol ;
- III. — Un mélange d'environ 22 % d'ascaridol, 23 % d'ascaridol-glycol et 55 % de terpènes ;
- IV. — 'Un mélange d'environ 37 % d'ascaridol, 37 % d'anhydride d'ascaridol-glycol et 26 % de terpènes.

On sait que l'ascaridol-glycol et son anhydride peuvent se trouver dans l'essence de mauvaise qualité, produite par une

méthode défectueuse de distillation ; il était donc utile de vérifier que leur présence n'altère pas les résultats du dosage de l'ascaridol. Les terpènes utilisés pour la confection des mélanges III et IV provenaient d'essence de *Chenopodium*.

Dans tous les cas les différences entre les valeurs obtenues par les deux méthodes n'excédèrent pas des proportions normales (moins de 8 % dans le cas III, le moins favorable).

A la suite de ces essais, COCKING et HYMAS (6) estiment à ± 1 % l'erreur expérimentale maximum que comporte la méthode iodométrique ; d'après leurs propres résultats, on peut la fixer à ± 2 %.

BODENDORF (2) a également contrôlé cette méthode en opérant sur de l'ascaridol pur, il trouve des valeurs très correctes (erreur relative inférieure à 3 0/00), mais en essayant des mélanges de l'ascaridol avec de l'essence de térébenthine (I), ou des fractions volatiles de l'essence de *Chenopodium* (II), il obtient des résultats un peu trop faibles qu'il attribue à une fixation d'iode sur les constituants non saturés, ajoutés à l'ascaridol : I : 51 % au lieu de 53 % ; II : 53,9 au lieu de 57 %.

Considérant d'autre part la complication de la réaction qui sert de base au dosage et les nombreux facteurs qui l'influencent, BODENDORF pense qu'il est extrêmement improbable qu'on puisse établir un dosage iodométrique quantitatif.

BROUGHTON (5) déduit de ses expériences comparatives avec la méthode de PAGET que la technique iodométrique n'est pas très exacte pour les essences riches en ascaridol, mais qu'elle mérite d'être étudiée.

Enfin, d'après REINDOLLAR (44), DAFERT et CAPASUS ont trouvé la méthode de COCKING et HYMAS simple et précise.

REINDOLLAR lui-même fournit un certain nombre de résultats comparatifs obtenus par titanométrie et par iodométrie et juge leur concordance satisfaisante (la plus grande différence relative dépasse à peine 4 %).

Comme on peut en juger, les opinions sur la technique iodométrique de dosage de l'ascaridol sont variées, mais, dans l'ensemble, assez favorables.

RECHERCHES PERSONNELLES.

La lecture de l'article de COCKING et HYMAS et les divergences des résultats obtenus par les différents auteurs au moyen de la méthode iodométrique, nous ont donné à penser qu'elle n'avait pas été étudiée de façon suffisamment systématique quant à l'influence des divers facteurs de la réaction : concentration en acide acétique, en ascaridol, température, temps de repos avant dosage, etc. ; aussi avons-nous décidé de combler cette lacune dans la mesure où nous le pourrions. Nous avons étudié les deux techniques : celle du Codex français et celle de la Pharmacopée britannique, qui diffèrent surtout, rappelons-le, par les deux points suivants :

1° — L'acide acétique employé pour la dissolution de l'essence est à 100 % au Codex et à 90 % à la Pharmacopée britannique ;

2° — Pour faciliter l'observation du virage, le Codex utilise le tétrachlorure de carbone que néglige la Pharmacopée britannique.

3° — Au Codex, on ajoute au témoin les 20 cm³ d'eau distillée (nécessaires pour l'appréciation du virage) au début de l'essai au lieu de les verser seulement au moment du titrage.

Le procédé français a été appliqué à l'ascaridol pur et à ses solutions dans le cymène pur à des titres variés entre 10 % et 90 % ; on a d'autre part étudié l'influence de certains facteurs de la réaction et en particulier le retentissement des modifications qui permettent de passer au procédé anglais.

Avant d'aborder l'exposé des résultats, il nous semble indispensable de décrire minutieusement la technique suivie, de sorte qu'elle puisse être reproduite dans ses moindres détails par tout chercheur désireux de nous contrôler, ou de l'appliquer dans des conditions exactement semblables.

Dosage iodométrique de l'ascaridol dans l'essence de *Chenopodium*

Technique du Codex Français 1937 (adaptation personnelle).

Réactifs.

Iodure de potassium R. P. pour analyse ; solution à 83 g. pour 100 cm³ (environ 5 N) ;

Acide chlorhydrique pur pour analyses ;

Acide acétique pur ;

Glace et sel (mélange réfrigérant) ;

Hyposulfite de sodium R. P. pour analyse ; solution 0,1 N environ, exactement titrée sur une solution de bioiodate de potassium 0,1 N.

Matériel.

Cristallisoir, diamètre : 12 cm. ; hauteur : 6 cm. (pour contenir le mélange réfrigérant) ;

Flacon jaugé de 20 cm³ avec bouchage émeri ;

Burette de 20 cm³ graduée en 1/20^e de centimètre cube ;

Burette de 25 cm³ graduée en 1/10^e de centimètre cube pour mesurer l'acide chlorhydrique ;

Pipette de 1 cm³ pour prélèvement de l'essence ;

Pipette graduée de 5 cm³ pour mesure de la solution d'iodure de potassium ;

Pipette jaugée de 5 cm³ (solution acétique d'essence) ;

Pipette jaugée de 10 cm³ (acide acétique) ;

Balance sensible au demi-milligramme.

Tous les réactifs sont mesurés au moyen de pipettes, sauf l'acide chlorhydrique qui est ajouté à l'aide d'une burette.

Technique : Titrage de la solution d'hyposulfite.

Dans une fiole conique de 150 cm³ avec bouchage émeri, mesurer 10 cm³ de solution 0,1 N de bioiodate de potassium ; ajouter 0,50 g. d'iodure de potassium et 1 cm³ d'acide chlorhydrique 2,5 N, boucher aussitôt. Attendre deux minutes.

titrer à l'hyposulfite, soit N le nombre de centimètres cubes d'hyposulfite utilisé. La normalité de la solution d'hyposulfite est $1 : N$.

DOSAGE DE L'ASCARIDOL.

Dans le flacon jaugé de 20 cm^3 taré avec son bouchon, on introduit au moyen d'une pipette environ 1 cm^3 d'essence dont on détermine le poids au demi milligramme près, après bouchage ; on complète le volume à 20 cm^3 avec de l'acide acétique pur et on rend la solution homogène par agitation soigneuse.

Dans la fiole conique de 150 cm^3 on mesure 3 cm^3 de solution d'iodure de potassium 5 N , 5 cm^3 d'acide chlorhydrique pur, (burette), puis 10 cm^3 d'acide acétique pur ; la fiole est bouchée et placée dans le mélange réfrigérant ; lorsque la solution est suffisamment refroidie (contrôle au thermomètre), c'est-à-dire au bout de 6 à 7 minutes, on ajoute, à la pipette, 5 cm^3 de solution acétique d'essence, en agitant, on bouche, agite à nouveau et replace la fiole dans le mélange réfrigérant ; elle en est retirée au bout de 5 minutes et, après addition de 5 cm^3 de tétrachlorure de carbone, le titrage est effectué au moyen d'hyposulfite décimormal, jusqu'à décoloration de la couche aqueuse. Le dosage complet dure de 20 à 25 minutes.

Avant ou après l'essai précédent, un témoin est traité exactement dans les mêmes conditions, mais en mélangeant 3 cm^3 de solution d'iodure de potassium, 5 cm^3 d'acide chlorhydrique, 15 cm^3 d'acide acétique et 20 cm^3 d'eau distillée ; il est abandonné dans le mélange réfrigérant le même temps global que l'essai contenant l'essence, soit 13 minutes.

REMARQUES

1°. — Durée de l'essai témoin.

Le témoin n'est pas mis en train en même temps que l'essai, ce qui permet de le titrer exactement dans le même délai après sa préparation ; en opérant comme il est indiqué au Codex, c'est-à-dire en mettant le témoin à refroidir en même temps que l'essai, il y a nécessairement une différence entre les délais avant dosage, pour les deux opérations, les deux titrages

tie pouvant être effectuées simultanément ; cet inconvénient n'est pas très grave en pratique, comme nous le verrons ; il le devient lorsque l'on veut, comme nous l'avons fait, se mettre à l'abri d'une cause d'erreur supplémentaire.

2°. — *Virage de l'essai contenant de l'ascaridol
(ou de l'essence de Chenopodium)*

En l'absence de toute addition, le virage de l'essai contenant l'essence est difficile à saisir ; la coloration jaune faible de traces d'iode se confond avec une teinte analogue provenant de l'essence elle-même et plus ou moins accentuée suivant les circonstances.

L'empois d'amidon, même ajouté au dernier moment, ne peut être utilisé pour faciliter l'observation du virage ; l'acidité du milieu est trop grande. Au lieu d'une teinte bleue on n'obtient que des colorations plus ou moins rougeâtres sans point de transition net. L'addition de tétrachlorure de carbone facilite au contraire beaucoup l'opération ; le terme du dosage est alors donné par la décoloration de la couche aqueuse ; le tétrachlorure de carbone, en effet, conserve toujours une certaine teinte jaune, d'autant plus accentuée que le pourcentage en ascaridol est plus élevé.

Lorsque ce dernier est très faible (10 % par exemple), la couche aqueuse elle-même reste toujours légèrement colorée, malgré l'addition d'un excès d'hyposulfite ; la fin du dosage est difficile à percevoir et le résultat peut être entaché d'erreur. On arrête l'affusion de liqueur titrée lorsque la coloration de la solution aqueuse ne varie plus sous l'influence de quelques gouttes de réactif qui ne sont pas comptées dans le résultat.

3°. — *Virage d'un essai ne contenant pas d'ascaridol.*

Lorsqu'on soumet au dosage du cymène pur, il est impossible de saisir un virage quelconque ; d'ailleurs l'hyposulfite subit dans ces conditions une décomposition anormale avec dégagement d'une forte odeur sulfhydrique ; pour que les choses rentrent dans l'ordre, il suffit d'ajouter à l'essai 20 cm³ d'eau distillée ; on constate que le résultat est identique aux erreurs d'expérience près, à celui que fournit un

témoin ; le cymène, comme il fallait s'y attendre, joue bien dans la réaction le rôle d'un corps indifférent.

4°. — Calcul — Essai témoin.

L'utilité d'un témoin s'explique par les considérations suivantes qui permettent également d'apprécier ses avantages et ses inconvénients : une solution fortement acide d'iodure de potassium, comme celle à laquelle on ajoute l'essence, s'oxyde spontanément sous l'influence de l'oxygène de l'air, indépendamment de toute intervention d'un réactif oxydant.

La proportion d'iode ainsi formée dépend d'un certain nombre de facteurs parmi lesquels l'acidité, la température, le temps de contact ; la quantité d'iode libérée dans l'essai de l'essence titrée par l'hyposulfite, soit N (exprimé en centimètres cubes de solution décijnormale) est par suite la somme de deux quantités inconnues : l'une n qui vient de l'oxydation inévitable du réactif sous l'action de l'air, dans les conditions du dosage ; n peut par suite varier avec ces conditions et indépendamment de la présence de l'ascaridol ; l'autre $M = N - n$ qui est due à l'action oxydante de l'essence.

Pour déduire du résultat du dosage la quantité d'ascaridol contenue dans la prise d'essai, il faut compléter la détermination selon l'un des procédés suivants :

Procédé I

En effectuant, en dehors du dosage lui-même, et dans les mêmes conditions, un essai témoin constitué comme l'essai principal, l'essence exceptée, on peut espérer que l'oxydation des constituants s'y effectuera comme dans l'essai principal lui-même, c'est-à-dire que la quantité d'iode libérée et titrée à l'hyposulfite sera précisément n .

Ayant déterminé N et n par titrage à l'hyposulfite respectivement de l'essai contenant de l'essence et de l'essai témoin, on en déduira la quantité $N - n$ attribuable spécifiquement à la présence de l'ascaridol ; si on a établi d'autre part que, dans tout le domaine d'application de la méthode, chaque centimètre cube d'hyposulfite de la quantité $N - n$ correspond à A grammes d'ascaridol, la quantité de ce dernier contenue dans la prise d'essai de l'essence examinée est : $(N - n) A$.

C'est ainsi que le dosage et le calcul s'effectuent aussi bien à la Pharmacopée britannique qu'au Codex français ; dans les deux cas on peut formuler des critiques ; la plus grave est la suivante qui s'applique aux deux procédés : il n'a jamais été démontré que, dans tout le domaine d'application pratique du dosage, par exemple, pour des concentrations comprises entre 50 % et 100 % d'ascaridol dans l'essence, la quantité d'ascaridol correspondant à 1 cm³ d'hyposulfite restait invariable.

COCKING et HYMAS (6) ont bien contrôlé leur méthode, pour différentes concentrations, par celle au chlorure de titane, mais comme cette dernière elle-même n'est pas exempte de critiques, comme nous le verrons, le contrôle reste aléatoire ; d'ailleurs, BROUGHTON (5) a constaté, au contraire, la variation des résultats avec la concentration en ascaridol dans l'essai ; les résultats, déterminés suivant le procédé officiel anglais, s'accroissent pour un même produit, avec la dilution.

Une autre critique est la suivante, que COCKING et HYMAS ont cherché à éviter :

Pour qu'un essai témoin puisse remplir parfaitement son rôle, il faut qu'il ne se distingue de l'essai principal que par l'absence du corps à doser. Il en est bien ainsi théoriquement dans le procédé anglais. Si l'on ajoute au témoin 20 cm³ d'eau distillée avant le titrage, c'est que, sans cette précaution, le virage serait impossible à percevoir ; d'ailleurs, dans l'essai principal, l'eau apportée par la solution d'hyposulfite joue le même rôle. Par contre, dans le procédé français, il y a une erreur, au moins théoriquement à ce point de vue ; les 20 cm³ d'eau distillée sont ajoutés dès le début de l'opération, de sorte que l'oxydation de l'iodure de potassium peut ne pas se réaliser de la même façon dans l'essai principal, en milieu fortement acide et dans l'essai témoin en milieu dilué.

Procédé II

Comme nous venons de le préciser, l'usage d'un témoin ne dispense pas d'étudier la dépendance quantitative entre les résultats du dosage et la proportion du principe

actif présent dans l'essai, seule méthode générale et sûre d'étude d'un procédé d'analyse quantitative; c'est cette méthode que nous avons employée, aussi en indiquerons-nous brièvement le principe: le procédé de dosage est appliqué à un certain nombre d'échantillons contenant des proportions variées $a_1, a_2, a_3 \dots a_n$ du principe à doser; on obtient ainsi des résultats $N_1, N_2 \dots N_n$.

Si, en répétant les mêmes essais sur les mêmes quantités $a_1, a_2, \dots a_n$, on retrouve les mêmes résultats $N_1, N_2, \dots N_n$, avec une précision satisfaisante pour le but poursuivi, le procédé est *fidèle*.

Le calcul peut être effectué simplement par interpolation à partir d'un tableau suffisamment étoffé des valeurs correspondantes $a_1 N_1, a_2 N_2$, etc... $a_n N_n$, qui constitue la définition expérimentale de la fonction $a = f(N)$; c'est ainsi qu'on opère, par exemple, pour le dosage des sucres d'après BERTRAND.

Dans la plupart des procédés de dosage courants, la forme de la fonction $a = f(N)$ est très simple; c'est le plus souvent, avec une approximation suffisante: $a = k N$ (1); k étant une constante, mais on a trop tendance à croire qu'il en est toujours ainsi; dans d'autres cas encore assez nombreux, c'est une fonction linéaire, c'est-à-dire du type $a = k N + l$ (2) k et l étant deux constantes, positives ou négatives.

On a alors $N = \frac{a - l}{k} = m a + n$, m et n étant deux constantes positives ou négatives.

Dans ce cas, on voit que le résultat N du dosage est la somme de deux quantités: l'une ma , dépend du principe à doser et est proportionnelle à sa teneur a dans l'essai; l'autre n est une constante indépendante de cette teneur. On peut se demander dans ce cas si la quantité n n'est pas due à une réac-

(1) Dont la représentation graphique est une droite passant par l'origine et de pente k .

(2) Dont la représentation graphique est une droite quelconque du plan de pente k d'ordonnée à l'origine l .

tion qui se poursuit au cours du dosage, indépendamment du principe dosé, c'est-à-dire, à partir des réactifs ; « dans ce cas, on répète les dosages en effectuant en même temps que l'essai principal, un essai témoin » dans des conditions rigoureusement identiques, mais sans y introduire le principe à doser ; soit $N_1 n_1, N_2 n_2, \text{ etc... } N_n n_n$, les résultats respectifs fournis par chaque couple d'essais.

$$\text{Si on a } \frac{N_1 - n_1}{a_1} = \frac{N_2 - n_2}{a_2} = \dots = \frac{N_n - n_n}{a_n} = m$$

l'hypothèse était justifiée ; on a d'une façon générale :

$$\frac{N - n}{a} = m$$

Le dosage, effectué avec un témoin, est correct et le calcul s'effectue au moyen de la formule

$$a = \frac{N - n}{m} = r \quad (N - n)$$

Si, au contraire, les rapports

$$\frac{N_1 - n_1}{a_1}, \frac{N_2 - n_2}{a_2} \dots \text{etc.} \frac{N_n - n_n}{a_n}$$

ne sont pas égaux entre eux, l'usage d'un témoin ne justifie pas le procédé de calcul et la méthode de dosage est incorrecte.

ETUDE DE LA TECHNIQUE DU CODEX FRANCAIS.

Nous avons étudié l'influence sur les résultats fournis par la technique du Codex français d'un certain nombre de facteurs : temps, température, etc... et surtout concentration en ascaridol dans la prise d'essai, en nous plaçant au point de vue pratique, c'est-à-dire en ne faisant varier les facteurs de la réaction que dans la mesure où ces variations n'éloignent pas trop des conditions habituelles du dosage (1).

Fidélité

Au cours de tous nos essais, trois résultats obtenus successivement le même jour, à partir du même échantillon, ont

(1) Une étude physico-chimique des deux réactions principales servant de base au dosage de l'ascaridol (iodométrie et titanométrie) sera effectuée par M. le Professeur M.-M. JANOT.

toujours donné des résultats satisfaisants quant à leur concordance ; l'écart maximum relatif (E. M. R.) n'a jamais dépassé 2,2 % et il est presque toujours resté inférieur à 1 %.

D'autre part, des examens d'essences effectués à des époques très différentes (Septembre 1941 et Février 1943) ont fourni des valeurs également concordantes (différence maximum relative : 2 %), ce qui prouve à la fois la fidélité de la méthode et la bonne conservation des essences.

Tous les témoins obtenus à partir du même échantillon d'iodure de potassium et d'eau distillée bouillie, ont fourni des résultats relativement fixes : $0,45 \pm 0,05$.

Influence du temps.

Si l'on double le temps de contact entre les réactifs et l'essence (10 minutes au lieu de 5), les résultats ne varient pas d'une quantité supérieure à l'incertitude de la méthode.

Influence de la présence et de la nature de l'acide minéral.

On a cherché sans succès à *supprimer l'acide chlorhydrique* ou à le remplacer par l'acide phosphorique (volume égal). Un essai effectué sur l'ascaridol pur sans acide chlorhydrique et avec 15 cm³ d'acide acétique au lieu de 10 cm³, a donné comme résultat 1 cm³,03 au lieu de 40 cm³,65, (témoins non déduits), c'est-à-dire que la réaction ne s'effectue pratiquement pas.

La *substitution de l'acide phosphorique à l'acide chlorhydrique* diminue sensiblement la libération d'iode ; pour l'ascaridol pur on a obtenu ainsi 37,60 cm³ au lieu de 40,65 cm³ et pour une solution d'ascaridol à 70 %, 25 cm³ au lieu de 28,40 — 28,85 cm³.

On a cherché également à employer *l'anhydride acétique* au lieu et place d'acide acétique à la fois pour dissoudre l'essence et ajouter au mélange réactionnel ; le résultat fut de 42,35 cm³ au lieu de 40,65 cm³ ; en substituant d'autre part l'iodure de potassium cristallisé (2,5 g.) à sa solution, le résultat s'abaisse à 40 cm³.

En résumé, aucune tentative n'a permis d'augmenter sensiblement les rendements en iode libéré.

Influence de la concentration en acides chlorhydrique et acétique

Si l'on utilise 10 cm³ d'acide chlorhydrique au lieu de 5 cm³ et inversement 5 cm³ d'acide acétique au lieu de 10, le résultat passe de 40,65 cm³ à 34,45 cm³. La diminution du titre de l'acide acétique, c'est-à-dire l'introduction d'eau dans le mélange, fait également baisser les rendements ; c'est ainsi que dans le procédé anglais où l'on utilise pour dissoudre l'essence de l'acide acétique à 90 % au lieu d'acide pur, les quantités d'iode libérées sont plus faibles (on en verra plus loin l'évaluation quantitative).

En diminuant de plus en plus le titré de l'acide acétique employé, à la fois pour dissoudre l'essence et en addition au mélange (90 %, 80 %, 70 %), les rendements en iode diminuent régulièrement ; par rapport à la valeur 40,65 cm³ obtenue avec l'acide à 100 % comme au Codex, on obtient respectivement les valeurs : 35,60 — 29,30 — 25,20.

Influence de la température.

L'élévation de la température abaisse, elle aussi, les rendements d'une façon très régulière, sans augmenter toutefois l'incertitude de la méthode.

Au lieu de 40,65 à 0°, l'ascaridol fournit à 15°, 39,32 cm³ et à 40°, 26,72. Une solution d'ascaridol à 70 % donne dans les mêmes conditions 28,15 cm³ à 15° et 26,80 à 40° au lieu de 28,85 cm à 0°.

L'influence des variations de température est donc faible et l'on pourrait probablement effectuer sans grand inconvénient les dosages à la température ordinaire, après avoir étalonné la méthode dans ces conditions ; il semble préférable toutefois de conserver la température de 0° pour effectuer la réaction, de façon à obliger l'analyste à respecter les conditions d'étalonnage et à éviter d'introduire une erreur supplémentaire.

Influence de la concentration en ascaridol.

Les divers essais précédents ne nous ayant pas permis de découvrir une amélioration notable de la technique du Codex, nous avons appliqué celle-ci sans modifications, sous la forme décrite plus haut, à l'ascaridol pur lui-même et à ses solutions dans le cymène aux différents taux suivants : 90 %, 80 %, 70 %, 60 %, 50 %, 40 %, 30 %, 20 %, 10 %.

Chaque essai fut effectué en triple exemplaire, avec un témoin, le plus souvent sur deux prises différentes (4 pour l'ascaridol lui-même).

Soit : q la prise d'essai en grammes d'ascaridol ou de sa solution toujours voisine de 0,25 g., x le pourcentage dans la solution soumise au dosage. La quantité d'ascaridol, en centigrammes, dans la prise d'essai est $\bar{q} = ax$; soit : N et n les volumes exprimés en centimètres cubes de solution décinormale d'hyposulfite utilisés respectivement pour l'essai principal et pour l'essai témoin : $N - n = V$.

L'ensemble des résultats obtenus a été utilisé pour la recherche de la relation $V = f(q)$ entre la quantité d'ascaridol et le volume d'hyposulfite qui lui correspond dans le dosage. On a utilisé la méthode graphique qui s'est montrée très suffisante.

Les valeurs de q sont portées en abscisses, les valeurs correspondantes de V , en ordonnées ; l'ensemble des points ainsi obtenus se répartit sensiblement sur une droite qui a été tracée de façon à laisser de part et d'autre sensiblement le même nombre de points à des distances comparables. La droite ainsi construite a pour pente 1,46, pour ordonnée à l'origine 3.

La relation cherchée entre V et q est donc

$$V = 1,46 q + 3 \quad (1)$$

Les valeurs de V calculées au moyen de cette formule diffèrent des valeurs trouvées expérimentalement de 2,8 % au maximum, sauf celle qui correspond à la concentration de 10 %, qui présente une différence relative de 5 % ; en effet, le dosage dans ce dernier cas fut incertain. Par suite de la faible teneur en ascaridol, le virage fut progressif et difficile à saisir.

Si l'on considère seulement les résultats compris entre 50 % et 100 %, c'est-à-dire le domaine intéressant au point

de vue pratique, on trouve par la même méthode la relation :

$$V = 1,425 q + 4 \quad (2)$$

Cette fois la concordance entre les valeurs calculées et les valeurs expérimentales est plus satisfaisante : la différence relative est dans 8 cas sur 11 inférieure à 1 %, elle ne dépasse pas 1,8 %. On peut donc considérer que la formule (2) représente convenablement la dépendance entre V et q , c'est-à-dire avec la précision des expériences elles-mêmes.

On en déduit : $q = \frac{V-4}{1,425}$ ou sensiblement, $q = 0,7 (V-4)$

q étant, en centigrammes, la quantité d'ascaridol dans la prise d'essai, le pourcentage en ascaridol dans le produit analysé est : $x = q : a = 0,7 (V-4) : a \quad (3)$

Ainsi la quantité $V = N - n$ n'est pas proportionnelle à la teneur en ascaridol. Malgré l'emploi d'un essai témoin le procédé de calcul du Codex français n'est pas correct et il conduit à des résultats erronés ; il faut utiliser la formule précédente (3) ou un tableau de valeurs correspondantes de x et V , calculé au moyen de cette formule en fixant, par exemple, la prise d'essai à 0,25 g.

$$\text{Si } a = 0,25 \quad x = 2,8 (V-4) = 2,8 (N-n-4) \quad (4)$$

Ainsi que nous l'avons déjà vu, n , volume d'hyposulfite décinormal consommé par l'essai témoin, est relativement constant pour un même échantillon d'iodure de potassium mis dans l'eau distillée bouillie ; n oscilla au cours de la plus grande partie de nos essais entre 0,20 et 0,60 avec une moyenne à 0,40. On peut donc poser : $n = 0,4 \pm 0,2$, en remplaçant n par cette valeur dans la formule (4), il vient :

$$x = 2,8 (N-4,4 \pm 0,2)$$

N , pour une essence contenant au moins 50 % d'ascaridol est au moins égal à 20 cm³. Dans les plus mauvaises conditions, l'erreur commise en négligeant les variations du témoin, serait donc égale à 1 %, ce qui pourrait être négligé.

Mais nous avons eu l'occasion d'utiliser des solutions d'iodure de potassium, préparées, il est vrai, sans précautions spéciales, qui conduisaient pour n à des valeurs plus élevées (jusqu'à 1,45).

Il vaut donc mieux conserver l'essai témoin en sachant seulement que son utilisation ne permet pas le calcul de la teneur en ascaridol au moyen d'un coefficient fixe.

La technique du Codex français, telle que nous l'avons décrite, a été appliquée à l'essai des divers échantillons d'essence que nous possédions ; le calcul a été effectué au moyen

de la formule $x = 0,7 \frac{V - 4}{a}$

Les résultats furent les suivants :

Essence échantillon	A	B	D	E	F	G	H
	—	—	—	—	—	—	—
Pourcentage d'ascaridol							
en Septembre 1941 ..	75.	71,8	72,1	66,5			
Pourcentage d'ascaridol							
en Février 1943	74,7	70,7	70,2	65,3	64,5	63,4	74,1

TECHNIQUE DE LA PHARMACOPÉE BRITANNIQUE

Nous n'avons pas fait de la technique de la Pharmacopée britannique une étude particulière en l'appliquant strictement suivant la description qui en est donnée, ceci pour les raisons suivantes :

1° — Contrairement à ce qu'on pourrait penser, un essai témoin donne les mêmes résultats aux erreurs d'expériences près, qu'il soit effectué suivant le formulaire français ou le formulaire anglais, c'est-à-dire en ajoutant les 20 cm³ d'eau distillée au début de l'essai ou seulement avant le titrage.

D'ailleurs, REINDOLLAR (45) cite quelques résultats de témoins compris entre 0,35 et 0,62 avec une moyenne à 0,46 ; ces valeurs sont vraiment voisines de celles que nous avons obtenues nous-mêmes pour les nombreux essais témoins effectués selon le Codex français : 0,40 à 0,50 avec une moyenne à 0,45 ;

2° — L'addition de tétrachlorure de carbone, si elle facilite énormément l'appréciation du virage, ne modifie pas les résultats.

Pour des raisons de commodité et d'économie de temps et de réactifs, nous avons donc étudié un procédé qui ne diffère de celui du Codex français que par la dissolution de l'essence dans l'acide acétique à 90 % au lieu d'acide pur cristallisable.

Les considérations précédentes prouvent suffisamment que ce procédé donne, plus commodément, des résultats identiques à ceux de la Pharmacopée britannique.

L'étude effectuée comme celle de la technique du Codex a conduit à représenter les résultats par la formule

$$V = 1,36 \, q + 3,3$$

$$\text{d'où : } x = \frac{N - 3,3}{1,36 \, a} = \frac{0,735}{a} (V - 3,3)$$

Ont été essayées suivant ce procédé, les essences A et B, qui ont fourni ainsi respectivement les pourcentages en ascaridol de 77,5 et 73,9.

Par curiosité, nous avons examiné suivant le même procédé, quelques résultats cités par Broughton (5) et concernant l'augmentation des résultats avec la dilution de la prise d'essai.

La formule qui les représente correctement est :

$$V = 1,30 \, q + 1,3$$

Graphiquement, c'est une droite sensiblement parallèle à celle qui correspond au procédé précédent, mais présentant une ordonnée à l'origine plus petite.

CHAPITRE V

Titanométrie

METHODE DE PAGET

Le premier procédé de dosage titrimétrique de l'ascaridol fut proposé en 1926 par PAGET (37), qui appliqua à ce peroxyde la méthode de réduction par le trichlorure de titane de KNECHT et HIBBERT (1).

DONNEES EXPERIMENTALES

Principe du dosage

L'ascaridol en solution alcoolique additionné d'un excès de trichlorure de titane est réduit avec production concomitante de tétrachlorure de titane :



L'excès de chlorure de titane $\text{Cl}_3 \text{Ti}$ est dosé au moyen d'un sel ferrique titré en présence d'un indicateur convenable, généralement le sulfocyanure de potassium.

Si la réaction s'effectuait suivant le schéma précédent, 1 g. d'ascaridol oxyderait 1,834 g. de trichlorure de titane, correspondant à 5,732 g. d'alun ferrique ammoniacal $(\text{SO}_4)_3 \text{Fe}_2$, $\text{SO}_4 (\text{NH}_4)_2$, 24 OH_2 .

Inversement à 1 g. de trichlorure de titane ou d'alun ferrique correspondrait respectivement 0,5453 g. ou 0,1745 g. d'ascaridol.

Les résultats expérimentaux diffèrent notablement de ces valeurs théoriques et varient quelque peu avec les conditions du dosage. Toutefois, comme pour la méthode iodométrique, les déterminations effectuées dans des conditions données sont reproductibles avec une certaine précision, ce qui a permis

(1) Des essais de réduction avec le métabisulfite de sodium ou l'acide sulfureux avaient montré à PAGET que ces réactifs étaient sans action ; l'hyposulfite ne convient pas non plus, car il réagit en même temps avec les hydrocarbures.

à PAGET d'établir sa méthode de dosage considérée encore à l'heure actuelle par certains (4) (5) (45) comme méthode étalon et adoptée par l'A. O. A. C. (Official and Tent. Meth. Anal. 4^e, édit. 1935).

Dans les conditions définies par PAGET, 1 g. d'ascaridol oxyde 1,277 g. de trichlorure de titane (moyenne de différents résultats variant de 1,243 à 1,304).

BROUGHTON et WEILAND (4) adoptèrent le facteur 1,284 (moyenne de résultats dont les extrêmes étaient 1,264 et 1,305).

Facteurs de la réaction.

Les résultats fournis par la méthode titanométrique sont susceptibles de varier entre certaines limites comme le montrent les différentes déterminations du coefficient empirique reliant l'ascaridol au trichlorure de titane oxydé; aussi examinerons-nous brièvement l'influence possible de divers facteurs sur la réaction d'après PAGET (37), KNAFFL-LENZ et HOFMANN (24) et BROUGHTON et WEILAND (4).

A froid, la réaction est complète en une heure; à l'ébullition en une minute; la prolongation de l'ébullition pendant 15 minutes ne change pas le résultat.

La proportion d'ascaridol réduit, augmente avec la concentration en chlorure de titane (10 % quand on passe de la concentration en chlorure de titane 0,02 N à la concentration 0,1 N).

La présence d'un solvant est sans influence sur le terme de la réaction, mais accélère et rend le virage plus net.

L'accroissement de la concentration en acide chlorhydrique provoque une diminution de la consommation en trichlorure de titane, par suite d'une réaction de l'ascaridol avec l'acide chlorhydrique, réaction qui sert d'ailleurs de base à un procédé colorimétrique (KNAFFL-LENZ et HOFMANN).

RECHERCHES PERSONNELLES.

Malgré son excellente réputation, la méthode de PAGET nous a paru insuffisamment étudiée, particulièrement au point de vue de l'influence de la concentration en ascaridol dans la prise d'essai, ou, si l'on veut, du procédé de calcul utilisé.

Aussi, avons-nous décidé de l'examiner à nouveau dans ce but particulier.

TECHNIQUE DE LA METHODE DE PAGET

Réactifs

Solution de trichlorure de titane. — Préparée à partir d'une solution mère du commerce à 15 % : 33 cm³ de cette solution sont additionnés de 66 cm³ d'acide chlorhydrique concentré ; on porte à l'ébullition que l'on maintient 1 minute ; après refroidissement, on dilue avec une quantité d'eau bouillie suffisante pour obtenir un volume de 1,125 litre.

Solution d'alun de fer et d'ammonium. — à 15 grammes du sel par litre, environ. Cette solution est dosée par la méthode de HARLAY, (réduction par l'oxyde cuivreux, dosage du fer ferreux au permanganate).

Solution de sulfocyanure de potassium à 10 %. réactif indicateur.

Alcool à 95°.

Matériel

Obus à gaz carbonique.

Deux flacons laveurs contenant, l'un du bicarbonate de potassium en solution aqueuse, l'autre parties égales d'une solution de trichlorure de titane à 15 % et d'une solution de citrate de sodium à 20 %.

Un flacon spécial servant à stocker la solution de trichlorure de titane à l'abri de l'air : un bouchon rodé émeri, porte deux tubulures permettant l'arrivée et le départ d'un courant de gaz carbonique, un orifice latéral fermé par un bouchon de liège sert au prélèvement de la solution de trichlorure.

Ballons à réaction.

Deux ballons à fond plat Pyrex de 250 cm³ munis chacun d'un bouchon de liège à trois trous ; ce dernier porte deux tubes à robinet, dont l'un donne accès au courant de gaz carbonique, l'autre permettant l'évacuation du gaz ; un troisième tube de diamètre assez gros (1,5 cm) fermant, soit au liège, soit

avec une valve de Bunsen permet l'introduction des différents produits participant à la réaction.

Pipette de 10 cm³ (mesure de la solution alcoolique d'essence) ;

Pipette de 20 cm³ (solution de chlorure de titane) ;

Pipette de 1 cm³ (solution de sulfocyanure).

TECHNIQUE

Titration de la solution d'alun de fer (HARLAY).

20 cm³ de la solution d'alun de fer mesurés dans une fiole jaugée de 100 cm³ sont additionnés de 5 cm³ d'acide phosphorique, 30 à 40 cm³ d'eau et 1 g. environ d'oxyde cuivreux ; on bouche, agite vigoureusement et complète à 100 cm³. On agite à nouveau et filtre ; 50 cm³ du filtrat sont additionnés de 5 cm³ de solution d'acide sulfurique au demi et titrés au moyen d'une solution décimale de permanganate. Soit n le nombre de centimètres cubes de solution de permanganate utilisés ; la quantité d'alun de fer par litre est égale à $4,82 n$.

Montage de l'appareil.

On relie au moyen de tubes de caoutchouc et dans cet ordre : obus, flacon laveur à chlorure de titane, flacon laveur à bicarbonate, flacon réserve de chlorure de titane, ballon à réaction.

On fait passer un certain temps le courant de gaz carbonique pour chasser l'air dans tout l'appareillage. Dans le ballon à réaction, on introduit alors, à la pipette, 10 cm³ (ou 2 cm³) d'une solution alcoolique d'essence contenant environ 0,25 g. d'essence pour 50 cm³, puis 20 cm³ de solution de chlorure de titane. (1)

On peut alors, soit séparer le flacon fermé avec une valve de Bunsen, et le chauffer à l'ébullition pendant 1 minute et demie, soit laisser le ballon dans le circuit et continuer à faire passer le courant de gaz carbonique pendant l'ébullition. Celle-ci une fois terminée, on met à refroidir dans un cristalliseur plein d'eau, pendant 10 minutes, en changeant l'eau au bout de 5 minutes.

(1) Dans la méthode de PAGET, on fait réagir 10 cm³ d'une solution alcoolique d'essence à 0,50 g. pour 50 cm³ avec 50 cm³ de solution de chlorure de titane.

A ce moment, on ajoute 1 cm³ de solution de sulfocyanure (on interrompt s'il y a lieu le courant de CO₂) et on titre avec la solution d'alun de fer jusqu'à coloration rouge faible permanente. On effectue un essai témoin exactement dans les mêmes conditions en remplaçant seulement les 10 cm³ (ou 2 cm³) de solution alcoolique d'essence par 10 cm³ (ou 2 cm³) d'alcool, (2)

REMARQUES

Conservation de la solution de chlorure de titane.

La solution de chlorure de titane conservée sans précaution, s'altère très rapidement ; il est indispensable de la tenir sous CO₂ et d'agiter le flacon avant chaque prélèvement pour homogénéiser le liquide qui peut être altéré davantage en surface.

Un essai de remplacement du chlorure par le sulfate de titane n'a pas donné de bons résultats, la solution de sulfate s'oxydant encore plus rapidement que celle du chlorure.

Etude de la technique titanométrique

Nous avons étudié l'influence sur les résultats fournis par la méthode titanométrique de quelques facteurs : durée d'ébullition, présence d'alcool et surtout concentration en ascaridol et en chlorure de titane dans le milieu réactionnel.

Fidélité.

La méthode titanométrique, modifiée par réduction de la quantité d'alcool, nous a donné des résultats du même ordre que la méthode iodométrique, l'écart maximum relatif de trois dosages reste généralement inférieur à 1,5 %.

Durée d'ébullition.

Nous avons vérifié que la durée de l'ébullition n'influence les résultats ni de l'essai principal ni de l'essai témoin.

(2) Cet essai témoin a été introduit par nous ; il ne fait pas partie de la technique de PAGET.

Présence d'alcool.

Au début de nos essais, nous opérons avec 10 cm³ d'alcool comme solvant; les essais et particulièrement les essais témoins présentaient, capricieusement d'ailleurs, des différences relatives exagérées (jusqu'à 6 %) ; après bien des tâtonnements, on put déduire que l'alcool devait être responsable de ces irrégularités. En fait, des essais témoins effectués sans alcool fournirent des résultats beaucoup plus concordants. Nous en sommes ainsi arrivés à une technique qui nous a, par la suite, donné de bons résultats : l'essence est introduite en solution dans 2 cm³ d'alcool seulement et le témoin ne reçoit également que 2 cm³ d'alcool.

Influence de la concentration en ascaridol.

Pour chercher la relation entre les résultats du dosage et les teneurs en ascaridol dans la prise d'essai, nous avons opéré exactement comme il a été indiqué au sujet de la méthode iodométrique : application du dosage aux solutions d'ascaridol de différents titres entre 50 et 100 %.

Soit : a la prise d'essai, en grammes d'ascaridol ou de sa solution, toujours voisine de 0,05 g., x le pourcentage dans la solution soumise au dosage, la quantité d'ascaridol, en centigrammes, dans la prise d'essai est $q = ax$.

Soit : e et t les quantités d'alun de fer, exprimées en centigrammes, utilisées respectivement pour l'essai principal et pour l'essai témoin $t - e = f$.

Les valeurs de q sont portées en abscisses, les valeurs correspondantes de f en ordonnées ; l'ensemble des points ainsi obtenus se répartit sensiblement sur deux droites, d'équations respectives :

$$f = 4,14 q + 1,85 \quad (1) \quad \text{et} \quad f = 3,2 q + 2,90 \quad (2)$$

Les points de la première droite (1) correspondent à une série de dosages pour lesquels la valeur de t est élevée (35,6), les points de la deuxième droite (2) correspondent aux autres dosages pour lesquels la valeur de t est basse (22,1).

Les résultats du dosage dépendent donc dans une certaine mesure de la concentration en chlorure de titane dans le mi-

lieu, comme l'avait déjà remarqué PAGET lui-même; on a d'une façon générale :

$$f = Aq + B$$

A et B dépendent de t

Si l'on admet que cette dépendance est linéaire, on peut écrire :

$$A = mt + n$$

$$B = rt + s$$

$$\text{avec } 4,14 = m \times 35,6 + n$$

$$3,2 = m \times 22,1 + n$$

$$\text{d'où } m = 0,07 \quad n = 1,66$$

On trouve de même $r = -0,078$ et $s = 4,62$
il vient finalement $f = (0,07 t + 1,66) q - 0,078 t + 4,62$ (3)

La formule (1) représente les résultats expérimentaux avec une erreur relative maximum de 2,2 %.

La formule (2) représente les résultats correspondants avec une erreur relative maximum de 2,5 %.

La formule (3) englobe l'ensemble des résultats sans comporter une erreur supérieure à 2,6 %.

La technique titanométrique telle que nous l'avons décrite a été appliquée à l'essai de nos divers échantillons d'essence; le calcul a été effectué au moyen d'une formule dérivée de la formule (3), soit :

$$x = \frac{f + 0,078 t - 4,62}{a (0,07 t + 1,66)}$$

Les résultats ont été les suivants :

Essence échantillon.	A	B	D	E	F	G	H
	—	—	—	—	—	—	—
Pourcentage d'ascaridol.	74,3	66,0	69,3	62,3	62,7	59,8	74,3

CHAPITRE VI

Essais de Solubilité

METHODE DE NELSON.

La méthode de dosage de l'ascaridol basée sur un fractionnement de l'essence de *Chenopodium* par distillation sous pression réduite, n'a jamais été inscrite dans un formulaire officiel. Le procédé proposé par NELSON en 1921 (35), qui consiste à déterminer la fraction de l'essence soluble dans l'acide acétique à 60 %, est donc en réalité le premier essai quantitatif de l'essence de *Chenopodium* adopté par une Pharmacopée, celle des Etats-Unis, 10^e édition 1926 ; il a été maintenu en 1936 à la 11^e édition (56), malgré les critiques dont il fut souvent l'objet, c'est ce qui nous a engagé à en faire une étude rapide.

DONNEES EXPERIMENTALES — PRINCIPE DU DOSAGE

L'ascaridol est soluble dans l'acide acétique à 60 % (10 bis).

Les constituants normaux de l'essence de *Chenopodium*, autres que l'ascaridol, sont insolubles dans ce même acide (NELSON (35)). De là à déduire que lorsqu'on traite un volume donné v d'essence de *Chenopodium* par un excès d'acide acétique à 60 %, seul l'ascaridol se dissout, il n'y a qu'un pas, franchi par NELSON ; du volume v' de la fraction insoluble, on déduit facilement le pourcentage x d'ascaridol dans l'essence par la relation

$$x = 100 (v - v') : v$$

TECHNIQUE.

Voici la technique de NELSON, améliorée par quelques précisions de détail, telle qu'elle figure actuellement à la Pharmacopée des Etats-Unis :

« Dans une « fiole à aldéhydes (1) » de 100 cm³, mesurer à la pipette 10 cm³ d'essence de *Chenopodium*, ajouter

(1) La fiole à aldéhydes (48) est un petit ballon d'environ 100 cm³ muni d'un col d'environ 13 cm de long et de 0.8 cm de diamètre intérieur ; le col entier tient donc un peu plus de 6 cm³. Il est gradué en dixièmes de centimètres cubes entre 0 et 6 cm³.

« 50 cm³ d'acide acétique à 60 % (obtenu en diluant à 100 cm³
« 60 cm³ d'acide acétique glacial). Agiter le mélange conti-
« nuellement et vigoureusement pendant 5 minutes et ajouter
« suffisamment d'acide acétique à 60 % pour faire monter la
« partie inférieure de la couche huileuse dans la partie gra-
« duée du col. Lorsque les liquides se sont complètement sé-
« parés, de sorte qu'on distingue entre eux un ménisque
« bien net, on note le volume de la couche huileuse à 25°.
« Il ne mesure pas plus de 4 cm³ et pas moins de 2 cm³, ce
« qui indique pour la fraction de l'huile soluble dans l'acide
« acétique, un pourcentage en volume au moins égal à 60
« et au plus égal à 80. »

Comme on le voit, cet essai est indiscutablement simple et rapide, il prête cependant à un certain nombre de critiques que nous allons passer en revue.

EXAMEN CRITIQUE DE LA METHODE DE NELSON

Il faut tout d'abord juger la valeur des données et principes sur lesquels repose le dosage : on discutera ensuite du réactif et de l'application du procédé à des échantillons commerciaux comparativement aux autres méthodes analytiques.

Première donnée : l'ascaridol est soluble dans l'acide acétique à 60. %.

NELSON a agité 10 cm³ d'ascaridol dans une fiole à aldéhyde avec de l'acide acétique à 60 % (2) ; il a trouvé que le produit se dissolvait dans la proportion de 98 % ; le résidu était une huile visqueuse, constituée probablement, dit l'auteur, par de l'ascaridol altéré ou polymérisé.

BROUGHTON et WEILAND (4) opérant sur de l'ascaridol 5 fois redistillé, ont trouvé une teneur de 100 % par la méthode de NELSON.

D'après NAVES (30), la dissolution de l'ascaridol dans l'acide acétique à 60 % s'effectue sans modification.

(2) NELSON appelle acide acétique à 60 % un mélange de 60 parties en volume d'acide acétique avec 40 parties d'eau.

Deuxième donnée : les constituants normaux de l'essence de Chenopodium autres que l'ascaridol sont insolubles dans l'acide acétique à 60 %.

NELSON a agité 10 cm³ de terpènes de l'essence de Chenopodium avec de l'acide acétique à 60 % dans une fiole à aldéhydes et les a trouvés insolubles.

Toutefois, l'anhydride d'ascaridol-glycol et l'ascaridol-glycol sont tous deux solubles dans l'acide acétique à 60 % (37).

Principe.

Le principe qui est à la base de la méthode de NELSON est le suivant : quand on agite l'essence de Chenopodium avec de l'acide acétique à 60 %, les choses se passent, au point de vue de la solubilité, comme lorsqu'on agite séparément l'ascaridol, d'une part, et la fraction non ascaridolique, d'autre part, avec le même acide acétique et le résultat global est la somme des résultats partiels qu'on eût obtenus séparément.

Il y a là une hypothèse comme dans toutes les méthodes de ce type, hypothèse qu'il faut, dans chaque cas, vérifier et la meilleure méthode pour le faire est, comme toujours, d'opérer sur des mélanges de titre connu en ascaridol et de comparer le pourcentage indiqué par la technique essayée avec le pourcentage réel.

En fait, il n'est pas certain, par exemple, que 50 cm³ (ou si l'on veut 90 cm³) d'acide acétique à 60 % ayant dissout 8 cm³ d'ascaridol possèdent vis-à-vis de la fraction non ascaridolique le même pouvoir dissolvant que l'acide acétique à 60 % lui-même.

BROUGHTON et WEILAND ont fait judicieusement remarquer que les phénomènes qui sont à la base du procédé de NELSON sont plus complexes que ne l'indique l'auteur et doivent être considérés à la lumière des lois qui régissent le partage de plusieurs corps entre deux solvants.

Spécificité.

Le reproche le plus grave qu'on puisse adresser à la méthode de NELSON est son manque de spécificité.

L'anhydride d'ascaridol-glycol et le glycol lui-même étant solubles dans l'acide acétique à 60 %, sont comptés comme ascaridol.

Mieux encore, l'essence de *Chenopodium* atteignant un prix élevé, elle est susceptible d'être fraudée, et l'a été effectivement, particulièrement pendant la guerre 1914-1918. Or, parmi les substances utilisées pour cette fraude, on en trouve un certain nombre qui sont solubles dans l'acide acétique à 60 %, en particulier le cinéol.

Réactif.

KARIYONE et KIMURA (23) ayant constaté, comme d'autres auteurs, que la méthode de NELSON donnait généralement des résultats trop faibles, essayèrent de remédier à ce défaut en portant le titre de l'acide acétique à 70 %. D'après SCHIMMEL (51), on obtient déjà avec l'acide à 60 % des chiffres trop élevés ; l'emploi d'acide à 70 % ne peut qu'exagérer cette erreur.

ETUDE DE LA METHODE DE NELSON

Application aux échantillons commerciaux.

BROUGHTON et WEILAND ont essayé la méthode de NELSON sur des solutions titrées d'ascaridol dans le cymène pur, dont les pourcentages variaient de 10 à 90 % environ par intervalles approximatifs de 10 %.

L'erreur, toujours par défaut, présente un maximum de 24 % environ pour une teneur en ascaridol voisine de 50 % ; elle s'abaisse régulièrement à 8,7 % pour une teneur de 10 % et à 2 % pour une teneur de 90 %.

Des résultats un peu différents ont été obtenus dans l'application de la méthode de NELSON, sous la forme qui lui a été donnée à la Pharmacopée des Etats-Unis, à des échantillons d'essence de titres variés contrôlés par d'autres procédés (45).

Alors que les méthodes iodométriques et titanométriques fournissent des valeurs concordantes, la méthode de NELSON donne des résultats trop élevés pour les fortes teneurs en ascaridol, au delà de 80 % environ et trop faibles pour les teneurs inférieures.

RECHERCHES PERSONNELLES

Comme nos échantillons étaient pour la plupart en quantité réduite, notre premier soin a été d'établir une semi-micro-méthode permettant d'opérer sur 2 cm³ d'essence, et dont voici la technique :

ESSAI DE SOLUBILITE DE L'ESSENCE DE CHENOPODIUM DANS L'ACIDE ACETIQUE A 60 % - SEMI-MICROMETHODE

Réactif.

Solution d'acide acétique à 60 % obtenue par dilution à 100 cm³ de 60 cm³ d'acide acétique cristallisable.

Matériel.

Ampoule à décantation de 20 cm³ bouchant à l'émeri de préférence, à col gradué de 1 cm³, divisé en vingtièmes de centimètre cube, longueur de la partie graduée : 4 cm.

Il est avantageux, pour faciliter le rassemblement de la couche insoluble dans la partie supérieure graduée et la séparation éventuelle des deux couches après la mesure, de donner à l'ampoule une forme un peu allongée des deux côtés.

Support pour l'ampoule (on peut prendre certains supports de burettes).

Vase de taille suffisante pour contenir l'ampoule, par exemple vase Pyrex de : 13 cm de hauteur et 6 cm. de diamètre.

Thermomètre gradué de 0 à 30° ;

Pipette de 2 cm³ (pour mesure de l'essence) ;

Pipette de 15 cm³ (pour mesure de l'acide acétique à 60 %) ;

Pipette de 5 cm³ (pour adjonction d'acide acétique à 60 %)

Technique.

Dans l'ampoule à décantation très propre (1), on mesure à la pipette 2 cm³ d'essence, on ajoute 15 cm³ d'acide acétique à 60 %, on bouche et agite le mélange *continuellement* et *vigoureusement* pendant 5 minutes. On ajoute alors *lentement* environ 5 cm³ d'acide acétique à 60 %, de façon à faire passer

(1) Nettoyée à chaud au moyen du mélange chromique et rincée à l'eau distillée ; dans une ampoule insuffisamment nettoyée, l'essence se rassemble mal.

le ménisque dans la zone graduée, mais *en évitant autant que possible le mélange avec le liquide présent dans l'ampoule.*

Celle-ci est alors placée sur son support et immergée dans l'eau ainsi que le thermomètre. Au bout de 20 minutes, on fait la lecture ; si quelques fines gouttelettes adhèrent aux parois, on les détache au moyen de petits coups secs frappés sur l'ampoule.

Justification de la technique et résultats.

L'ampoule ne peut évidemment être utilisée que lorsque la teneur en ascaridol est supérieure à 50 %.

L'erreur de lecture est environ de $0,01 \text{ cm}^3$, comme elle est répétée deux fois, l'erreur globale peut atteindre $0,02 \text{ cm}^3$; dans le cas le plus défavorable (teneur de 50 % en ascaridol), l'erreur relative due à l'incertitude de la lecture, est de $0,02 \text{ cm}^3$ pour 1 cm^3 , soit 2 %.

Influence de la température.

La température influe peu sur les résultats, des expériences faites entre 14 et 20° ont fourni des résultats identiques, aux erreurs d'expériences près.

Mode d'agitation.

Le mode d'agitation exerce une très grande influence sur les valeurs trouvées ; il est indispensable, comme l'indique la Pharmacopée des Etats-Unis, d'agiter *continuellement et vigoureusement* pendant cinq minutes.

Temps d'agitation.

Si l'agitation est correctement réalisée, il suffit de la poursuivre pendant 5 minutes ; les résultats ne changent pas si on porte la durée à 10 ou 20 minutes.

Quantité d'acide ajoutée avant l'agitation.

La quantité d'acide ajoutée à l'essence avant l'agitation est un facteur essentiel de la méthode. Des essais systématiques effectués avec des quantités variables d'acide acétique à 60 % ont montré que la proportion d'essence dissoute *augmentait*

de façon très régulière avec la quantité de solution acide ajoutée. Celle-ci variant de 10 à 20 cm³, la quantité d'essence non dissoute passe de 0,79 cm³ à 0,49 cm³ pour une prise d'essai de 2 cm³.

On a donc cherché à porter à un maximum compatible avec une agitation convenable, soit 15 cm³, la quantité d'acide acétique ajoutée dès le début à l'essence.

Addition finale d'acide acétique.

L'addition de l'acide acétique destiné à faire passer le ménisque dans le col de l'ampoule est un point délicat de la technique. Après cette addition, il est impossible d'effectuer un mélange correct, le volume resté libre dans l'ampoule étant trop faible. Comme la solubilité de l'essence varie avec la quantité d'acide acétique qui lui est mélangée, nous avons préféré réaliser cette dernière addition en évitant autant que possible toute agitation.

Fidélité.

Lorsqu'on suit rigoureusement les indications que nous venons de donner, les résultats présentent une régularité satisfaisante. L'écart maximum relatif de trois dosages effectués simultanément est de l'ordre de 2 %. Par contre, si l'on néglige les précautions indiquées, principalement si l'agitation n'est pas réalisée correctement, les erreurs peuvent être beaucoup plus élevées.

Étalonnage de la méthode.

La méthode a été étalonnée sur des solutions d'ascaridol dans le cymène dont les titres variaient entre 60 et 100 %.

Les résultats obtenus ressemblent beaucoup à ceux qu'ont publié Broughton et Weiland.

	Pourcentage en ascaridol				
réel	60	70	80	90	100
{ (résultats personnels)	47	58	73	93	100
trouvé { (résultats de B et W	46	55	70	88	100
arrondis)					

Pour des teneurs inférieures à 60 %, la méthode n'est pas applicable avec notre ampoule, le volume de la fraction dissoute étant supérieur à 1 cm³.

Résultats.

Les divers échantillons d'essences essayés par notre semi-microméthode, ont fourni les résultats suivants :

Echantillon	A	B	D	E	F	G	H
Pourcentage de la fraction soluble (semi-microméthode)	83	72,5	73	84,5	71,5	77,5	73
Pourcentage en ascaridol	85	79,7	80	85,8	79	82,3	80

Nous avons ajouté les résultats exprimés en ascaridol, calculés par interpolation, en tenant compte de l'étalonnage de la méthode au moyen des solutions titrées d'ascaridol.

CHAPITRE VII

Colorimétrie

Une méthode colorimétrique, nécessairement peu précise, au moins comme on la réalise habituellement, ne présente d'intérêt que si elle est simple et rapide ou si l'on ne possède pas d'autres procédés de dosage. Aussi, avons-nous renoncé à une étude de la méthode de KNAFFL-LENZ et HOFMANN (24), basée sur la coloration jaune virant au brun que fournit l'ascaridol en solution alcoolique diluée sous l'influence de l'acide chlorhydrique concentré. Cette méthode qui a d'ailleurs été étudiée par BROUGHTON (5), exige un délai d'au moins 6 heures après addition du réactif et ne fournit que des résultats grossièrement approchés.

Par contre, nous avons examiné avec quelques détail deux procédés basés sur les colorations que prend l'ascaridol (ou l'essence de *Chenopodium*) par chauffage, soit seul, soit en présence de phénolphtaléine.

PROCEDE PAR CHAUFFAGE DE L'ASCARIDOL EN L'ABSENCE DE TOUTE ADDITION.

On trouve à la Pharmacopée allemande (8) l'essai limite suivant : « Chauffer à l'ébullition, à feu nu, dans un tube à essai, 1 cm³ d'essence de *Chenopodium* (ne pas en employer davantage), pendant environ 1 minute. Pour une teneur en ascaridol d'environ 60 %, le liquide se colore en jaune foncé avec ébullition tumultueuse ».

Au Codex français, l'essai est devenu simplement qualitatif. « Versez dans un tube à essais un centimètre cube d'essence de *Chenopodium* avec un petit fragment de pierre ponce. Chauffez jusqu'à commencement d'ébullition, il se produira, du fait de la décomposition du peroxyde, un dégagement de bulles gazeuses qui continuera pendant quelques instants, après cessation du chauffage ; le liquide en même temps prendra une teinte jaune d'or. »

Si cet essai, simple et rapide, permet réellement de vérifier qu'une essence contient au moins 60 % d'ascaridol, il est susceptible de rendre de très grands services dans la pratique. On peut espérer, d'autre part, que la coloration, étant en relation avec la teneur en ascaridol, permet, dans une certaine mesure, de l'évaluer.

Nous avons donc étudié ce procédé, d'abord pour en améliorer la technique, ensuite pour en apprécier la valeur.

RECHERCHES PERSONNELLES

L'essai du Codex allemand a d'abord été réalisé aussi exactement que possible sur nos 7 échantillons d'essences et sur de l'ascaridol pur et quelques-unes de ses dilutions dans le cymène. Dans chaque cas, le produit chauffé était comparé à un témoin formé du même produit non traité.

Dans tous les cas, il est apparu une coloration d'intensité très variable suivant l'échantillon, la teinte allant d'un jaune clair à peine plus coloré que le témoin à un jaune très foncé.

Avec l'ascaridol pur, la coloration est forte, moins intense cependant que celle fournie par l'une des essences (échantillon D).

Si les différents échantillons ont été chauffés de la même façon (ce qu'on a essayé de faire, il est impossible que la coloration soit en relation directe avec la teneur en ascaridol, à moins que quelque autre facteur n'intervienne, l'essence D ne pouvant être plus riche en ascaridol que ce corps lui-même.

D'autre part, les solutions d'ascaridol cessent de se colorer déjà pour une teneur de 70 %.

Voici d'ailleurs le classement ainsi établi :

COLORATION	ESSENCES	SOLUTIONS D'ASCARIDOL
très marquée	D	
marquée	A — E — G	ascaridol 90 %
faible	B — H —	80 %
très faible	F	
nulle		70 % — 50 %

1°. — Le mode de chauffage est évidemment défectueux, il ne s'opère pas dans des conditions bien déterminées ; plusieurs expériences répétées successivement dans des conditions apparemment aussi semblables que possible, donnent des résultats différents. Il semble tout indiqué de remplacer le chauffage à feu nu par un chauffage dans un bain porté à température déterminée.

2°. — Le chauffage peut provoquer, suivant les dimensions du récipient utilisé, une perte irrégulière en fractions volatiles, ce qui contribue à rendre peu précises les conditions de l'opération.

Comme on ne peut, de façon simple, rendre ces pertes régulières, il faut les empêcher en munissant le tube à essai d'un réfrigérant très simple, formé d'un bouchon traversé par un tube de verre.

3°. — Les essais préliminaires tendent à prouver qu'il faut atteindre une température déterminée pour que la coloration apparaisse, température qu'il s'agit de préciser.

Dans tous nos essais ultérieurs, le matériel suivant a été utilisé :

Bain d'huile constitué par un vase Pyrex de 200 cm³ contenant de l'huile de vaseline.

Tubes à essais Pyrex étirés à la partie inférieure de façon à présenter sur une longueur de 2 cm un diamètre d'environ 1 cm.

Support ordinaire pour maintenir le tube dans le bain.

Thermomètre gradué jusqu'à 360°, plongeant dans le bain ou dans l'essence.

Réfrigérant formé d'un bouchon traversé par un tube de verre (longueur : 15 cm, diamètre : 0,8 cm.)

Bec Bunsen ordinaire.

Dans chaque essai, on a utilisé 0,5 cm³ d'essence qui fut chauffée progressivement.

On a ainsi étudié quelques-uns des facteurs susceptibles d'influencer la réaction.

Température.

Les essais ont d'abord été réalisés avec l'essence qui, lors des expériences préliminaires, avait présenté la plus forte accentuation de teinte par chauffage (essence D).

La coloration devient plus intense vers 190°, elle augmente avec la température ; à partir de 270°, l'accentuation est rapide. A cette température, une essence (H) qui se colorait à peine par la technique du Codex allemand, donne une réaction nettement positive.

Durée de l'essai.

La température restant fixe, la coloration s'accroît avec la durée du chauffage, au moins pendant un certain temps.

Pour que l'essai ne dure pas trop, il faut, nous venons de le voir, chauffer à 270° environ ; à cette température, il est inutile de prolonger l'opération au delà de 15 minutes.

Remarque.

On a vérifié, au cours de ces essais, le caractère fortement exothermique de la décomposition de l'ascaridol, dont voici un exemple : 0,5 cm³ d'essence (H) sont chauffés lentement et progressivement ; à partir de 150° le thermomètre placé dans le tube monte rapidement jusqu'à un maximum situé vers 200°. Toutefois, la coloration de l'essence ne s'accroît que pour une température plus élevée.

On a cherché sans succès à abaisser la température de décomposition de l'essence par addition de catalyseurs variés : le charbon activé, le bioxyde de manganèse ne provoquent que de légères différences dans l'allure de l'ébullition.

Le sélénium, le nickel Raney, l'aluminium pulvérulent, n'ont pas modifié la température de décomposition, mais, après ébullition en leur présence, l'essence ne se colore plus, même par un chauffage prolongé.

La technique établie à la suite de nos différents essais au bain d'huile : chauffage de 0,5 cm³ d'essence à 270° pendant 15 minutes, avec tube réfrigérant, a été appliquée à nos divers échantillons d'essence. Elle nous a conduit au même classement que la technique du Codex allemand sans assurer une régularité beaucoup plus grande des résultats justifiant cette complication notable du mode opératoire.

Possédant désormais la conviction que la comparaison colorimétrique des essences par simple chauffage ne nous con-

duirait à aucune application pratique, nous avons abandonné les essais de ce type et recherché si l'addition d'un corps étranger convenable n'améliorait pas les résultats.

PROCEDE PAR CHAUFFAGE DE L'ASCARIDOL APRES ADDITION D'UN CORPS ETRANGER.

Lorsqu'on chauffe l'ascaridol ou une essence de *Chenopodium* suffisamment riche en-ascaridol avec un certain nombre de corps (phénolphtaléine, diméthylamine, benzaldéhyde, diphenylamine, etc...), il apparaît une coloration rouge considérée par différents auteurs comme caractéristique de l'ascaridol et dont l'intensité serait en relation avec sa teneur dans l'échantillon. (24) (26) (62)

KNAFFL-LENZ et HOFMANN (24) ont essayé d'appliquer cette réaction au dosage de l'ascaridol dans l'essence sans arriver à des résultats satisfaisants.

Nous avons repris cette étude sans grand espoir d'être plus heureux que les auteurs précités, mais plutôt dans le but de compléter notre documentation pratique sur l'ascaridol.

KNAFFL-LENZ et HOFMANN opèrent la réaction de LANGER à la phénolphtaléine de la façon suivante :

Dans un tube à essais, on mesure 1 cm³ d'essence et 0,5 cm³ d'une solution alcoolique de phénolphtaléine à 4 %. On élimine l'alcool avec précaution par chauffage et on maintient le tube pendant 10 secondes à la température de 155°.

Pour des essences contenant au moins 60 % d'ascaridol, il se fait une coloration pourpre qui augmente avec la teneur de l'essence en principe actif.

Nous avons vérifié ces données. La coloration obtenue ressemble étrangement à celle qu'on obtient par un chauffage direct, suffisamment intense et prolongé, comme il a été pratiqué dans notre technique de chauffage direct de l'ascaridol. Mais on peut faire à cet essai les mêmes reproches qu'au chauffage direct : les conditions en sont difficiles à reproduire au cours d'essais successifs ; l'élimination de l'alcool s'effectue de façon irrégulière et, par suite, la durée de chauffage, qui influe sur la coloration obtenue, est soumise à des variations importantes :

Pour remédier dans une certaine mesure à ces irrégularités, nous avons employé le même dispositif que dans les essais de chauffage direct.

Nous avons supprimé l'alcool et employé la phénolphtaléine pure à l'état solide à des doses variant de 0,05 à 0,30 g. pour 0,5 cm³ d'essence. La coloration obtenue est très nette, mais varie avec la proportion de phtaléine utilisée et avec la durée du chauffage. Si le résidu de l'opération effectuée à 200° pendant 10 minutes est repris par un volume donné d'alcool, la teinte de la solution alcoolique varie du brun très clair au brun rouge foncé.

Comme SCHIMMEL (49), nous pensons que la phénolphtaléine et les autres corps qui donnent une réaction analogue, ne jouent pas un rôle spécifique, ils agissent probablement en augmentant la température d'ébullition de l'essence, ou en catalysant la réaction que produit le chauffage direct.

Il nous a semblé que la coloration obtenue par chauffage à 200° pendant 10 minutes de 0,5 cm³ d'essence avec 0,20 g. de phénolphtaléine, était sensiblement la même que celle fournie par un chauffage direct de 15 minutes à 270°.

Dès lors, beaucoup d'autres corps doivent agir comme la phénolphtaléine, c'est ce que l'expérience a confirmé ; l'acide borique, l'acide benzoïque, l'urotropine, le trioxyméthylène, conduisent à des résultats semblables à ceux que donne la phénolphtaléine, ou même plus marqués.

L'acide benzoïque, à la dose de 0,05 à 0,15 g., fournit des colorations particulièrement nettes. Cependant, la comparaison des teintes obtenues dans des conditions identiques, à partir des produits, montre des variations qui nous font abandonner l'espoir d'arriver à un résultat satisfaisant.

CHAPITRE VIII

Comparaison des résultats

Pour la commodité des comparaisons, nous avons groupé les résultats en tableau.

	Désignation de l'échantillon						
	A	B	D	E	F	G	H
(1) Iodométrie Codex	—	—	—	—	—	—	—
(Septembre 1941) ..	82,0	78,8	79,1	73,3			
(Février 1943)	82,1	78,7	77,9	73,2	72,3	71,0	81,2
(2) Iodométrie Codex							
(Septembre 1941) ..	75,0	71,8	72,1	66,5			
(Février 1943)	74,7	70,7	70,2	65,3	64,5	63,4	74,1
Différences relatives entre (1) et (2)							
Codex (Février 1943)	9,9	11,3	10,9	12	12,1	12	9,6
(3) Titanométrie, 2 cc	74,3	66,0	69,3	62,3	62,7	59,8	74,3
(4) Titanométrie, 2 cc	75,2	67,2	66,7	64,3	61,7	58,9	75,6
(5) Nelson	83	72,5	73	84,5	71,5	77,5	73
(6) Nelson	85	79,7	80	85,8	79	82,25	80
(7) Essai D. A. B. VI (7)	90 à 100	80	100	90-100	70 à 80	90-100	80%

(1) Technique du Codex 1937, pourcentage en ascaridol, calcul effectué en remplaçant le coefficient du Codex : 0,0084, par le coefficient 0,00665.

(2) Technique du Codex 1937, pourcentage en ascaridol, calcul effectué au moyen de notre formule (voir chapitre IV).

(3) Technique utilisant 2 cm³ d'alcool, pourcentage en ascaridol calcul effectué au moyen de notre formule (voir chapitre V).

(4) Technique utilisant 2 cm³ d'alcool, pourcentage en ascaridol, calcul effectué au moyen du coefficient de PAGER (voir chapitre V).

(5) Technique semi-micro-Nelson, pourcentage de la fraction soluble tel qu'il résulte de la lecture directe.

(6) Technique semi-micro-Nelson, pourcentage d'ascaridol.

(7) Technique D. A. B. VI, pourcentage en ascaridol déduit de la comparaison avec les colorations fournies dans les mêmes conditions par des solutions titrées d'ascaridol dans le cymène.

L'examen de ce tableau inspire les remarques suivantes :

Les résultats obtenus par la technique du Codex en Septem-

bre 1941, d'une part, et en Février 1943, d'autre part, sont voisins les uns des autres. Les premiers sont (à l'exception de l'un d'eux) légèrement supérieurs : la plus grande différence entre deux résultats obtenus sur un même échantillon à des dates différentes, s'élève à 1,7 % ; on peut en déduire que la méthode iodométrique possède une fidélité très satisfaisante et que, pratiquement, les essences, conservées d'ailleurs dans de bonnes conditions, ne se sont pas altérées pendant ces 18 mois.

On peut rapprocher de cette observation ce fait constaté par nous au cours de ces essais, en contradiction avec certaines données de la littérature : l'ascaridol pur préparé en septembre 1941, conservé à l'obscurité, n'a subi aucune altération depuis cette époque et a présenté après 18 mois exactement le même aspect et les mêmes constantes physiques.

Le calcul direct effectué au moyen du coefficient 0,00665, conduit à des valeurs très différentes de celles qu'on obtient par notre méthode de calcul, c'est-à-dire par comparaison directe des résultats expérimentaux obtenus, d'une part, sur l'échantillon d'essence, d'autre part, sur une solution titrée d'ascaridol ; mais les deux procédés conduisent au même classement des divers échantillons par ordre de teneurs décroissantes en ascaridol.

Les résultats obtenus au moyen de la méthode titanométrique (3) sont tous inférieurs à ceux que fournit la méthode iodométrique. La différence relative est, au maximum de 6,7 %.

En ce qui concerne les valeurs obtenues au moyen de la technique semi-micro NELSON par lecture directe de la fraction soluble.

1° — comparées à celles que fournit la méthode iodométrique (1) (avec calcul classique), elles sont toujours inférieures, sauf dans le cas de l'essence A, la plus concentrée en ascaridol ;

2° — comparées aux valeurs obtenues par titanométrie, elles sont toujours plus élevées ;

3° — comparées aux pourcentages en ascaridol qu'on peut en déduire comme nous l'avons exposé (voir chapitre VI), elles sont toujours plus faibles.

Enfin, ces pourcentages en ascaridol résultant de l'application de la méthode semi-micro NELSON, *sont toujours plus élevés* que ceux fournis par toutes les autres méthodes.

L'essai du Codex allemand conduirait à attribuer aux divers échantillons d'essence une teneur en ascaridol toujours trop élevée ; l'essence D donne une réaction plus intense que l'ascaridol lui-même ; alors que les autres essais permettent de lui attribuer une valeur moyenne.

Conclusions

Au terme de cette étude, dont nous reconnaissons toutes les imperfections, bien des modes de réaction de ce corps étrange qu'est l'ascaridol, nous paraissent encore obscurs, mais nous pensons pouvoir répondre sans hésiter à la question d'ordre analytique qui nous était posée concernant la valeur pratique de la méthode iodométrique de dosage de l'ascaridol, inscrite au Codex.

La méthode du Codex est fidèle, nous avons effectué, suivant cette méthode 30 dosages, chacun en triple exemplaire, soit 90 essais. L'écart maximum relatif entre les trois résultats, n'a jamais dépassé 2,2 %, il est presque toujours resté inférieur à 1 %. 16 de ces essais portant sur des solutions titrées d'ascaridol, ont fourni des valeurs dont l'ensemble peut être exprimé par une formule unique avec une erreur relative toujours inférieure à 2,8 %, sauf dans un cas particulièrement défavorable (concentration faible) où elle atteint 5 %.

Par contre, la méthode du Codex est inexacte : dans la formule qui permet le calcul du pourcentage en ascaridol à partir des résultats du dosage, le coefficient 0,0084 est faux et d'ailleurs son remplacement par le coefficient 0,00665 indiqué par COCKING et HYMAS et inscrit à la Pharmacopée britannique, a déjà été proposé ; mais ce dernier coefficient a été établi pour la technique des auteurs anglais, qui diffère de celle du Codex par quelques points, en particulier, par la concentration de l'acide acétique utilisé pour la dissolution de la prise d'essai. Or, cette concentration influe sur les résultats du dosage.

Le coefficient 0,00665 a été calculé à partir des résultats obtenus sur l'ascaridol pur, mais comme nous l'avons montré (Chapitre IV) en étalonnant la méthode au moyen de solutions titrées d'ascaridol pur, malgré l'emploi d'un essai témoin les résultats du dosage effectué suivant la technique du Codex (aussi bien que suivant celle de la Pharmacopée britannique) ne sont pas directement proportionnels aux quantités d'ascaridol contenues dans la prise d'essai. Ils en dépen-

dent d'une façon linéaire qui, pour des concentrations en ascaridol comprises entre 50 et 100 %, peut se traduire par la formule $N - n = 1.425 q + 4$, N et n étant les quantités d'hypo-sulfite 0,1 N correspondant respectivement à la prise d'essai et au témoin, et q la quantité d'ascaridol dans la prise d'essai, exprimée en centigrammes.

Il en résulte que le calcul devrait être effectué au moyen de la formule

$$x = 0,7 (N - n - 4) : a$$

x étant le pourcentage en ascaridol dans l'essence et a la prise d'essai, exprimée en grammes.

Les différences entre les résultats obtenus par le procédé de calcul du Codex (avec le coefficient 0,00665) et celui que nous proposons, sont importantes. Rapportées aux valeurs que fournit notre procédé, les différences relatives varient, par exemple, entre 12,1 % et 9,6 %; pour les divers échantillons d'essence essayés.

Si l'on veut en tout cas, maintenir au Codex, un procédé de calcul basé sur l'emploi d'un coefficient, il faut adopter pour ce dernier la valeur de 0,00634 établie par application du procédé du Codex à l'ascaridol pur, ou mieux encore la valeur 0,00605 correspondant à une teneur de 70 % en ascaridol, concentration moyenne des essences.

Il faut d'autre part exiger que la prise d'essai ne s'écarte pas de 0,25 g. d'une quantité supérieure par exemple à 0,01 g., sans quoi les résultats varieraient avec la prise d'essai.

La méthode du Codex est simple et rapide ; elle pourrait probablement être conduite sans grand inconvénient à la température ordinaire (sous réserve d'avoir été étalonnée dans ces conditions), mais l'emploi du mélange réfrigérant, sans introduire de complication bien grande, assure plus de fidélité aux résultats.

La manière d'effectuer le témoin, bien que peu rationnelle par la différence qu'elle présente avec la technique de l'essai principal (1) n'introduit pas d'erreur.

(1) Les 20 cm³ d'eau distillée devraient être ajoutés seulement avant le titrage et non au début de l'essai.

Le maintien d'un témoin qui, théoriquement n'est pas nécessaire, présente l'intérêt de préserver contre des variations de la qualité des réactifs.

En résumé, la méthode iodométrique du Codex pour le dosage de l'ascaridol dans l'essence de *Chenopodium* est satisfaisante : ajoutons qu'elle nous paraît la plus sûre de celles que nous avons essayées.

La méthode titanométrique est fidèle *pour une technique déterminée* ; l'écart maximum relatif est du même ordre que pour la méthode iodométrique ; comme celle-ci elle présente un inconvénient : la variation des résultats, non seulement avec la prise d'essai, mais encore avec le titre de la solution de chlorure de titane, et enfin avec la teneur en acide chlorhydrique, comme l'ont montré KNAFFL-LENZ et HOFMANN et BROUGHTON.

L'influence de ces divers facteurs obligerait, pour étalonner complètement la méthode à une étude plus détaillée que celle que nous avons réalisée ; nous ne pouvons donc émettre à son sujet une opinion ferme ; mais le fait même qu'elle dépend de tant de facteurs nous la rend suspecte.

A ce sujet, il est étonnant que BROUGHTON et WEILAND (4) après avoir noté au cours de leurs essais préliminaires, la variation des résultats avec le titre de la solution de chlorure de titane, n'aient pas éprouvé de difficultés à ce sujet, lors de leur étalonnage de la méthode.

Nous n'avons pas essayé la technique de NELSON telle qu'elle est inscrite à la Pharmacopée des Etats-Unis, mais une semi-microméthode que nous avons créée sur le même principe, de façon à économiser nos échantillons d'essence.

Le procédé est relativement fidèle, mais là encore, par l'étalonnage au moyen de solutions titrées d'ascaridol, nous avons retrouvé la variation des résultats avec la teneur des prises d'essai en ascaridol.

Quant au procédé du D. A. B. VI pour la vérification d'un titre minimum de 60 % basé sur la coloration que prend l'essence par chauffage, il donne des résultats peu constants et semble faux même dans son principe.

Nous en arrivons maintenant à la comparaison des résultats ; une question se pose irrésistiblement à l'examen du tableau qui groupe l'ensemble des valeurs obtenues par les différentes méthodes pour les pourcentages en ascaridol dans les divers échantillons : chaque méthode a été étalonnée vis-à-vis de solutions titrées d'ascaridol et possède une fidélité satisfaisante ; comment peut-il se faire que les résultats obtenus par deux procédés différents ne soient pas toujours concordants ? La réponse est simple à notre avis : on ne dose pas toujours la même chose.

Des écarts entre les méthodes iodométrique et titanométrique nous ne dirons rien ; les réactions qui servent de base à ces procédés sont trop complexes pour qu'on puisse à ce sujet formuler autre chose que des hypothèses ; mais les valeurs toujours plus grandes obtenues par la méthode semi-micro-NELSON par rapport aux autres méthodes s'expliquent facilement quand on sait que l'ascaridol-glycol et son anhydride se dissolvent dans l'acide acétique à 60 % ; on dose ainsi par ce procédé un « totum ascaridolique » tandis que dans les autres cas, l'ascaridol-glycol et son anhydride n'entrent pas en jeu dans les réactions mises en œuvre.

ADDENDUM

PROPOSITION DE REDACTION POUR LA PHARMACOPÉE

*(les notes explicatives ne doivent pas être comprises
dans cette rédaction)*

DOSAGE DE L'ASCARIDOL

Dissolvez une prise d'essai comprise entre 2,40 g et 2,60 g (1), pesée au demi-milligramme près (2), dans une quantité d'acide acétique suffisante pour avoir un volume total de 50 cm³. D'autre part, mélangez 3 cm³ d'une solution contenant 83 g. d'iodure de potassium pour cent avec 5 cm³ d'acide chlorhydrique concentré et 10 cm³ d'acide acétique officinal. Placez ce liquide dans un mélange réfrigérant (*température* 0 à 3°). Quand le liquide est bien refroidi, ce qui demande environ 6 à 8 minutes (3), ajoutez en agitant 5 cm³ de la solution acétique d'essence de Chénopode ; bouchez soigneusement et laissez dans le mélange réfrigérant pendant 5 minutes.

Ajoutez au mélange 5 cm³ de tétrachlorure de carbone, titrez l'iode libéré avec la solution décimormale d'hyposulfite de sodium jusqu'à décoloration exacte de la couche aqueuse (4).

(1) La prise d'essai ne doit pas s'écarter de 2,50 g. de plus de 0,10 g. sans quoi les résultats obtenus varieraient avec la prise d'essai (voir chapitre IV).

(2) L'erreur relative ainsi commise est au maximum de 2 %. c'est-à-dire qu'elle est négligeable vis-à-vis de l'incertitude de la méthode.

(3) Il est important que cette durée soit approximativement respectée, autrement le refroidissement du témoin et celui de l'essai ne s'effectueraient pas dans des conditions comparables.

(4) On se rappelle (chapitre IV) que le tétrachlorure de carbone reste plus ou moins coloré, suivant la teneur de la prise d'essai en ascaridol.

Faites, d'autre part, avant ou après cet essai, un témoin dans les mêmes conditions, mais en mélangeant dans l'ordre de leur énumération, 3 cm³ de la solution d'iodure de potassium, 5 cm³ d'acide chlorhydrique officinal, 15 cm³ d'acide acétique, 20 cm³ d'eau distillée. Refroidissez ce mélange comme il a été indiqué pour l'essai, pendant 15 minutes (5) ; ajoutez 5 cm³ de tétrachlorure de carbone et versez de l'hyposulfite de sodium jusqu'à décoloration exacte de la couche aqueuse.

Soit : N et n les volumes d'hyposulfite décimal exprimés en centimètres cubes, consommés respectivement par l'essai et le témoin, a la prise d'essai, exprimée en grammes, le pourcentage x d'ascaridol dans l'essence est :

$$x = 0,605 (N - n) : a \quad (6)$$

Le produit officinal doit contenir au minimum 60 % et au maximum 80 % d'ascaridol déterminé par ce procédé (7).

(5) L'essai reste dans le mélange réfrigérant 6 à 8 minutes avant l'addition de la solution d'essence, 1 à 2 minutes environ pendant cette addition et 5 minutes ensuite, ce qui fait au total de 12 à 15 minutes ; le témoin doit donc y séjourner sensiblement le même laps de temps.

(6) Le facteur employé 0,605 correspond à une teneur de 70 % en ascaridol, concentration des essences commerciales de qualité moyenne.

(7) Etant données la toxicité de l'ascaridol et l'existence d'essences très riches (voisines de 100 %), il est prudent de fixer un maximum, comme le fait la pharmacopée des Etats-Unis.

Le minimum et le maximum indiqués correspondent respectivement à des teneurs réelles en ascaridol (déterminées par notre procédé), de 58,8 % et 81,1 %.

Bibliographie

1. AUBERT (A. B.). — Notes upon the Constants of some little known oils. *J. Amer. Chem. Soc.* 1902, **24**, 691-691.
2. BODENDORF (K.). — Ueber die Wertbestimmung von Chenopodiumöl. *Apoth. Zeit.* 1930, **45**, 1636-1638.
3. BODENDORF (K.). — Ueber ungesättigte Peroxyde (Zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Autoxydationsvorgänge. *Arch. d. Pharm.* 1933, **271**, 1-35.
4. BROUGHTON (L. B.) et WEILAND (G. S.). — Report on Chenopodium oil: the determination of ascaridole in Chenopodium oil. *J. Assoc. Offic. Agric. Chem.* 1930, **13**, 334-343.
5. BROUGHTON (L.-B.). — Report on oil of Chenopodium. *J. Assoc. Offic. Agric. Chem.* 1941, **14**, 341-347.
6. COCKING (T.-T.) et HYMAS (F.-C.). — The Determination of Ascaridole in Chenopodium oil. *Analyst* 1930, **55**, 180-186.
7. DEMAUGRE (M.-J.-H.). — Sur les dangers chez l'enfant de l'essence de Chenopodium anthelminticum. *Thèse Méd. Paris*, 1939.
8. *Deutsches Arzneibuch*, 6^e édition 1926, xxx et 481-482.
9. DOWZARD (E.). — The solubility value of essential oils. *Chem. a. Drugg*, 1898, **53**, 749-749.
10. *Farmacopeia official Espanola*, 8^e édit. 1930, 306-307.
11. FLU, DELANGEN et WEEHUIZEN, d'après NELSON (35).
12. GARRIGUES (S. S.). — Oleum Chenopodii anthelmintici, or Worm-seed oil. *Amer J. Pharm.* 1854 (3), **26**, 404-408.
13. GATTEFOSSÉ (R.). — Solubilité des essences. Détermination d'un coefficient. *Parfum. Moderne* 1910, **3**, 97-98.
14. GILDEMEISTER (E.) et HOFMANN (F.). — Die ätherischen Ole, 3^e édition, par Gildemeister (E.). I. 1928, 666-667. II. 1929, 541-546.
15. GUIMARAES (F.). — Action de l'essence de Chenopodium sur les vers de terre. *C. R. Soc. Biol.* 1927, **96**, 1249-1250.
16. GUIMARAES (F.). — Sur le parasitotropisme de l'essence de Chenopodium pour les entozoaires. *C. R. Soc. Biol.* 1927, **96**, 1251-1253.
17. HATCHER (R. A.). — Useful Drugs. 10^e édition. Chicago 1936, 145-146.
18. HENRY (T.-A.) et PAGET (H.). — Chenopodium oil. *J. Chem. Soc.* 1921, **119**, 1714-1724.
19. HENRY (T.-A.) et PAGET (H.). — Chenopodium Oil Part II. The Hydrocarbon Fraction. *J. Chem. Soc.* 1925, **127**, 1649-1659.
21. JANOT (M.-M.) et CHAIGNEAU (M.). — Décomposition de l'ascaridol sous l'action de la chaleur. *C. R. Ac. Sc.*, 1942, **214**, 746-747.
22. JANOT (M.-M.) et POTTIER (R.). — Sur l'hydrogénation de l'ascaridol. (*Recherches en cours*).

23. KARIYONE (T.) et KIMURA (Y.). — Ueber Ascaridolbestimmung nach NELSON. *Pharm. Zeit.* 1924, **69**, 586-586.
24. KNAFFL-LENZ (E.) et HOFMANN (A.). — Ueber die quantitative Bestimmung von Ascaridol in Chenopodiumölen. *Arch. d. Pharm.* 1929, **267**, 117-128.
25. KREMERS (E.). — Phytochemical Notes. *Pharm. Rev.* 1907, **25**, 155-157.
26. LANGER (A.). — Eine Reaktion des amerikanischen Würmsamen öls. *Pharm. Zeit.*, 1921, **66**, 191-191.
27. LIEBHAFSKY (H. A.) et SHARKEY (W. H.). — The Determination of organic Peroxides. *J. Amer. Chem. Soc.* 1940, **62**, 190-192.
- 27 bis. MEYER (H.). — Analyse et détermination de la constitution des composés organiques. Albin Michel II. 1924. 1126-1130.
28. MUNCH (J. C.) et REINDOLLAR (W. F.). — A statistical study of the pharmacopoeial constants of Oleum Chenopodii. *J. Amer. Pharm. Assoc.* 1931, **20**, 564-568.
29. MURRAY (A.-G.). — Report of subcommittee B on recommendations of referees. *J. Assoc. off. agric. Chem.* 1929, **12**, 73-77.
30. NAVES (Y. R.). — L'essence de Chenopodium et l'ascaridol. *Parfums France*, 1935, **13**, 4-13.
31. NELSON (E.-K.). — A Chemical investigation of the oil of Chenopodium. *J. Amer. Chem. Soc.* 1911, **33**, 1404-1412.
32. NELSON (E.-K.). — A Chemical investigation of the oil of Chenopodium II. *J. Amer. Chem. Soc.* 1913, **35**, 84-90.
33. NELSON (E.-K.). — The resolution of ascaridolic acid. *J. Amer. Chem. Soc.* 1914, **36**, 2521-2522.
34. NELSON (E.-K.). — The composition of oil of Chenopodium from various sources. *J. Amer. Chem. Soc.* 1920, **42**, 1204-1208.
35. NELSON (E.-K.). — A rapid assay method for the determination of ascaridol in oil of Chenopodium. *J. Amer. Pharm. Assoc.* 1921, **10**, 836-837.
36. NELSON (E.-K.). — Report on Chenopodium oil. *J. Assoc. off. Agric. Chem.* 1929, **12**, 303-307.
37. PAGET (H.). — The Determination of Ascaridole in Chenopodium oil. *The Analyst*, 1926, **51**, 170-176.
38. PAGET (H.). — Chenopodium oil Part III. Ascaridole. *Chem. Soc.* 1938, 829-833.
- 38 bis. PRECHMANN (H. von) et VANINÒ (L.). — Darstellung von Acylsuperoxyden. *Ber. chem. Ges.*, 1894, **27**, 1510-1512.
39. *Pharmacopée Belge*, 4^e édition 1930, 169-170.
40. *Pharmacopée Française*, 6^e édition II, 324-325.
41. *Pharmacopoea Helvetica*, 5^e édition, 1934, 653-654.
42. PORCHER-PIMPARD (M^{me}). — Contribution à l'étude du pouvoir antiseptique des essences végétales. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)* Toulouse 1942.
44. REINDOLLAR (W.-F.). et MUNCH (J.-C.). — A Comparison of the chemical and biological assays of Oleum chenopodii. *J. Amer. Pharm. Assoc.* 1931, **20**, 443-445.

45. REINDOLLAR (W.-F.). — A comparative study of the three recognized assays for oil of *Chenopodium*. *J. Amer. Pharm. Assoc.* 1939, **28**, 589-591.
 46. RICHTER (F.). et PRESTING (W.). — Zur Kenntnis des Ascaridols (I. Mitteil). *Ber. chem. Ges.*, 1931, **64**, 878-882.
 47. RUSSELL (C. A.). — The influence of methods of distillation on the commercial value of oil of american wormseed. *J. Amer. Ph. Assoc.*, 1922, **11**, 255-262.
 48. SCHIMMEL. — Cassia-Oel. *Ber. Schimmel*, Octobre 1890. 9-14.
 49. SCHIMMEL. — Wurmsamenöl, amerikanisches. *Ber. Schimmel* 1908, Avril 108-118.
 50. SCHIMMEL. — *Ber. Schimmel* 1923, 81-86.
 51. SCHIMMEL. — Wurmsamenöl, amerikanisches. *Ber. Schimmel* 1925, 90-95.
 52. SCHIMMEL. — *Ber. Schimmel* 1927, 120-120.
 53. SIMON (P.). — Sur les intoxications par quelques antihelminthiques. *Thèse Med.* Paris 1935, Vigot, Paris.
 54. SMILLIE (W. G.) et PESSÔA (S. B.). — A study of the anthelmintic properties of the constituents of the oil of *Chenopodium*. *J. Pharm. Exp. Therap.* 1924, **24**, 359-370.
 55. *The British Pharmacopœia*, édition 1932, 302-303.
 56. *The Pharmacopœia of the United States of America*, II^e édition 1936, 251-252.
 57. THOMS (H.) et UNGER (F.). — Ueber Prüfungsmethoden der in das Deutsche Arzneibuch Ausgabe 6, aufgenommenen Artikel. *Arch. d. Pharm.*, 1926, **264**, 578-581.
 58. THOMS (H.) et DOEKE (W.). — Zur Kenntnis des Ascaridols, *Arch. d. Pharm.* 1930, **268**, 128-137.
 59. WALLACH. — Ueber Askaridol. *Ann.*, 1912, **392**, 59-69.
 60. WARREN (L.-E.), TYTHGOE (H.-C.) et MURRAY (A.-G.). — Report of subcommittee Bon recommendation of referees. *J. Assoc. official Agric. Chem.* 1931, **14**, 50-54.
 61. WIRTH (E.-H.). — A study of *Chenopodium ambrosioides* Var. *anthelminticum* and its volatile oil. *J. Amer. Pharm. Assoc.*, 1920, **9**, 127-141.
 62. ZIMMERMANN (W.). — Zur Erkennung des *Oleum Chenopodii ambrosioidis* var. *anthelmintici*. *Apoth. Zeit.*, 1922, **37**, 243-243.
-

